

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra kvality a bezpečnosti potravin**



**Fakulta agrobiologie,  
potravinových a přírodních zdrojů**

**Biologická aktivita vybraných druhů korálovce (*Hericiium*;  
*Hericiaceae*) a nastínění jejich možné aplikace ve vývoji  
funkčních potravin**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Petra Kamínková**

**Obor studia: Výživa a potraviny**

**Vedoucí práce: Ing. Jan Tauchen, Ph.D.**

© 2022 ČZU v Praze

## Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci „Biologická aktivita vybraných druhů korálovce (*Hericiium*; Hericiaceae) a nastínění jejich možné aplikace ve vývoji funkčních potravin“ jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14. 4. 2022

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu práce Ing. Janu Tauchenovi, Ph.D. za odborné rady a cenné připomínky. Poděkování patří také Ing. Janu Šťastnému za pomoc s praktickou částí práce a trpělivost.

# Biologická aktivita vybraných druhů korálovce (*Hericium*; *Hericiaceae*) a nastínění jejich možné aplikace ve vývoji funkčních potravin

## Souhrn

Přítomností biologicky aktivních látek jsou proslulé zejména potraviny z kategorií ovoce a zelenina. Nicméně jedlé houby se jeví být také zajímavým zdrojem zdraví prospěšných sloučenin. Současná věda hledá inspiraci například v tradičním čínském léčitelství, jež po více než tisíc let používalo léčivé houby, mezi které patřil mimo jiné korálovec ježatý.

Cílem diplomové práce bylo stanovit antioxidační a protizánětlivou aktivitu šesti méně známých specifických kmenů korálovce ježatého (*Hericium erinaceus*): KZ09, KZ91, KZ92, KZ111, KZ116 a KZ120. Dále zvolit kmen s největším potenciálem, který by následně mohl sloužit k vývoji funkčních potravin pro prevenci nebo léčbu nemocí způsobených oxidačním stresem, se speciálním ohledem na zánětlivá onemocnění. Vytipování vhodného kmene proběhlo na základě výsledků *in vitro* metod. K určení antioxidačních schopností jednotlivých kmenů byly zvoleny metody založené na inhibici peroxylových radikálů (ORAC) a 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyllových radikálů (DPPH). Protizánětlivá aktivita byla stanovena pomocí komerčního kitu podle schopnosti vzorků inhibovat enzym cyklooxygenázu (COX-2).

Největší antioxidační potenciál vykazovaly kmeny *H. erinaceus* KZ91 a KZ166 s hodnotami  $67,18 \pm 3,75$  a  $65,92 \pm 5,51$   $\mu\text{g TE/mg}$  extraktu (ORAC, methanolové extrakty). Slibný protizánětlivý účinek byl pozorován u kmenů *H. erinaceus* KZ09, KZ92, KZ91 a KZ116 s průměrnými inhibicemi  $81,09 \pm 2,43$ ,  $72,78 \pm 5,26$ ,  $72,31 \pm 2,55$  a  $70,57 \pm 3,00$  % (COX-2, chloroformové extrakty). Výsledky naznačují, že specifické kmeny KZ91 a KZ116 vykazovaly kombinatorní antioxidační a protizánětlivý účinek, a proto by se jim měla věnovat pozornost při navazujícím výzkumu funkčních potravin obohacených o houbový materiál nebo izolované biologicky aktivní látky. Výzkum by se měl zaměřit především na analýzu chemického složení vzorku, testování biologické aktivity hotových funkčních potravin *in vivo* a klinickými studii.

**Klíčová slova:** doplňky stravy; léčivé houby; oxidační stres; volný radikál; zánět

# Biological activity of selected species of *Hericium* (Hericiaceae) and outline of their possible application in the development of functional foods

## Summary

It is a well-known fact that bioactive compounds are present in foods such as fruit and vegetable. Nonetheless, edible mushrooms seem to be an interesting source of health promoting compounds as well. Current science seeks inspiration for instance in traditional Chinese medicine that has been using medicinal mushrooms, including *Hericium erinaceus*, for more than a thousand years.

The purpose of this thesis was to determine antioxidant and anti-inflammatory activities of six less known strains of *H. erinaceus*: KZ09, KZ91, KZ92, KZ111, KZ116 and KZ120. Another aim was to choose a strain with the highest potential that could eventually be used for development of functional foods for prevention or treatment of diseases caused by oxidative stress with special regard to inflammatory diseases. The selection of the most suitable strain was based on the results of *in vitro* methods. Antioxidant activity of the strains was determined based on the inhibition of peroxy radicals (ORAC) and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radicals (DPPH). Anti-inflammatory activity was evaluated using a commercial kit according to the ability of the samples to inhibit cyclooxygenase (COX-2).

The highest antioxidant potential was observed in samples *H. erinaceus* KZ91 and KZ116 with values  $67,18 \pm 3,75$  and  $65,92 \pm 5,51$   $\mu\text{g TE/mg extract}$  (ORAC, MeOH extracts). Strong anti-inflammatory effect was measured in the samples *H. erinaceus* KZ09, KZ92, KZ91 and KZ116 with average inhibitions  $81,09 \pm 2,43$ ,  $72,78 \pm 5,26$ ,  $72,31 \pm 2,55$  and  $70,57 \pm 3,00$  % (COX-2, TCM extracts). The results suggest that the specific strains KZ91 and KZ116 showed a combinatorial antioxidant and anti-inflammatory effect and should therefore be considered in follow-up research on functional foods enriched with fungal material or isolated biologically active substances. Further studies should be focused mainly on the chemical composition of the sample, along with testing biological activity of prepared functional foods *in vivo* and in clinical trial settings.

**Keywords:** dietary supplements; medicinal fungi; oxidative stress; free radical; inflammation

# Obsah

<b>1 Úvod .....</b>	<b>8</b>
<b>2 Vědecká hypotéza a cíle práce .....</b>	<b>9</b>
<b>3 Literární rešerše .....</b>	<b>10</b>
<b>3.1 Korálovec .....</b>	<b>10</b>
3.1.1 Chemické složení .....	11
3.1.2 Biologicky aktivní látky .....	11
3.1.2.1 Polysacharidy .....	12
3.1.2.2 Hericenony .....	12
3.1.2.3 Erinaciny .....	14
3.1.2.4 Erinapyrony, erinaceriny a další .....	17
3.1.2.5 Ergothionein .....	17
3.1.2.6 Lektiny .....	18
3.1.2.7 Steroly .....	18
3.1.2.8 Silice .....	19
3.1.3 Tradiční využití v lidovém léčitelství .....	19
<b>3.2 Biologická aktivita .....</b>	<b>20</b>
3.2.1 Antioxidační aktivita .....	20
3.2.1.1 Metody stanovení antioxidační aktivity .....	21
3.2.1.2 Antioxidační aktivita korálovce .....	23
3.2.2 Protizánětlivá aktivita .....	25
3.2.2.1 Metody stanovení protizánětlivé aktivity .....	26
3.2.2.2 Protizánětlivá aktivita korálovce .....	27
<b>3.3 Funkční potraviny .....</b>	<b>28</b>
<b>4 Materiál a metody .....</b>	<b>31</b>
<b>4.1 Houbový materiál .....</b>	<b>31</b>
<b>4.2 Chemikálie, reagenty a standardy .....</b>	<b>31</b>
<b>4.3 Příprava vzorků a extrakce .....</b>	<b>31</b>
<b>4.4 Stanovení antioxidační aktivity <i>in vitro</i> .....</b>	<b>32</b>
4.4.1 DPPH .....	32
4.4.2 ORAC .....	32

4.5	Stanovení protizánětlivé aktivity <i>in vitro</i> .....	32
4.6	Statistická analýza.....	33
5	Výsledky .....	34
5.1	Výsledky stanovení antioxidační aktivity.....	34
5.2	Výsledky stanovení protizánětlivé aktivity .....	34
6	Diskuze .....	36
7	Závěr.....	39
8	Literatura.....	40
9	Seznam použitých zkratk a symbolů .....	55

# 1 Úvod

Vliv biologicky aktivních látek v potravinách na zdraví je hojně diskutované téma. Potraviny bohaté na sloučeniny s biologickou aktivitou mohou být zajímavé z hlediska prevence nebo léčby některých onemocnění. Tradičně jsou zkoumány ovoce, zelenina a léčivé rostliny, v poslední době však roste zájem laické i odborné veřejnosti o léčivé houby. Ty vykazují řadu biologických aktivit, včetně antioxidační, protizánětlivé, imunomodulační, cytotoxické, protirakovinné a antidiabetické (Venturella et al. 2021). Jedlé houby s léčivým potenciálem nacházíme především v rodech hlíva (*Pleurotus*), lesklokorka (*Ganoderma*), pečárka (*Agaricus*), choroš (*Polyporus*), houževnatec (*Lentinula*) a korálovec (*Hericium*) (Mwangi et al. 2022). Jedním z méně prostudovaných rodů z hlediska biologických aktivit jednotlivých druhů je korálovec.

Korálovec je rod jedlých hub, který se vyskytuje především na severní polokouli (Evropa, Severní Amerika, Čína, Japonsko). Roste paraziticky nebo saprotrofně na kmenech stromů, na kterých způsobuje bílou hnilobu. Nejznámějším a nejpoužívanějším druhem je korálovec ježatý (*Hericium erinacus*), jenž je díky své typické plodnici po světě znám pod různými jmény: *lion's mane* v Severní Americe, *yamabushitake* v Japonsku, *hou tou gu* v Číně. Korálovec ježatý se používal v tradiční čínské medicíně, zejména pro léčbu gastrointestinálních problémů (Pegler 2003). I proto se stal předmětem vědeckých studií, které v jeho plodnici a myceliu prokázaly přítomnost řady biologicky aktivních látek. Mezi nejdůležitější patří hericenony, erinaciny, erinaceriny, erinaroly, ergosterol a ergothionein (Ma et al. 2010). Díky schopnosti produkce daných sloučenin je navrhován jako součást nových funkčních potravin. Nyní je dostupný na trhu především ve formě potravinových doplňků. Nedostatečně prozkoumané jsou však rozdíly v aktivitě různých specifických kmenů.

Z biologických aktivit se v současnosti věnuje zvláštní pozornost antioxidační aktivitě. Oxidační procesy jsou přirozenou součástí biochemických procesů v organismu, příkladem je oxidativní fosforylace v mitochondriích. Při oxidačních procesech vznikají volné radikály, které jsou pro správné fungování organismu nezbytné. Volné radikály se mohou do těla dostávat i z vnějších zdrojů, jako jsou cigaretový kouř a pesticidy. V případě nadměrné kumulace volných radikálů v organismu dochází k oxidačnímu stresu, který má negativní vliv na lidské zdraví. Často je oxidační stres spojován s celou řadou onemocnění, avšak vědecké důkazy podporují souvislost pouze s určitými typy rakoviny, některými neurodegenerativními nemocemi a zánětlivými onemocněními. Organismus má vlastní antioxidační ochranu díky systému endogenních antioxidantů, především enzymů. Jinou možností je příjem exogenních antioxidantů (Halliwell 2012).

Další často zkoumanou aktivitou u léčivých hub je protizánětlivá aktivita. Zánět je přirozenou imunitní reakcí organismu na patogenní mikroorganismy, chemické a fyzikální vlivy nebo nedokrvění tkání. Účelem zánětlivých procesů je hojení, eventuálně také získání imunity. Problém nastává v případě, kdy zánět přejde do chronického a začne poškozovat organismus. V důsledku může dojít k rozvoji revmatoidní artritidy, idiopatických střevních zánětů, cukrovky a dalších onemocněních (Hořejší 2017; Germolec et al. 2018). Látky s protizánětlivou aktivitou mají potenciál patologické zánětlivé reakce regulovat.

Z výše uvedených důvodů se tato práce zabývala stanovením antioxidační a protizánětlivé aktivity *in vitro* u méně známých specifických kmenů korálovce ježatého.



## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

Cílem diplomové práce bylo stanovit antioxidační a protizánětlivou aktivitu u specifických druhů a kmenů korálovců (*Hericiium* sp.; Hericiaceae) a následně určit vzorek s největším potenciálem pro vývoj funkčních potravin, které by mohly sloužit jako prevence nebo léčba nemocí způsobených oxidačním stresem, a to se speciálním ohledem na zánětlivá onemocnění.

Z výzkumného problému byla formulována hypotéza, že systematické testování houbového materiálu může vést k objevu extraktů či jednotlivých látek s výraznou antioxidační a protizánětlivou aktivitou využitelných při vývoji funkčních potravin.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Korálovec

Korálovec (*Hericium*) je rod stopkovýtrusných hub (Basidiomycota). Patří do třídy rouškatých (Agaricomycetes), řádu holubinkotvarých (Russulales), čeledi korálovcovitých (Hericiaceae). Korálovce tvoří velké (nejčastěji 30 cm široké), bílé až krémové, okrouhle kompaktní nebo korálovitě větvené plodnice s ostnitým hymenoforem. Výtrusy (bazidiospory) mají elipsoidní až téměř kulovitý tvar a jsou amyloidní, v Melzerově činidle se barví do modra až šedomodra. Právě výtrusy jsou především u mladých plodnic klíčové při určování konkrétního druhu, u dospělých plodnic stačí určení podle vnějších znaků (Holec et al. 2012). Korálovce se vyskytují roztroušeně až vzácně, zejména v lesích severní polokoule. Rostou na dřevě, převážně na kmenech starých nebo padlých stromů a na pařezech (Pegler 2003). Živí se buď paraziticky, kdy organické látky získávají přímo z živého stromu, nebo saprotrofně, kdy organické látky získávají z odumřelého dřeva, které dále rozkládají (Holec et al. 2012). Korálovce při rozkladu dřeva štěpí především lignin, celulózu štěpí pouze zčásti, čímž způsobují na dřevě bílou hnilobu, která je vláknitá a drží vodu (Leonowicz et al. 1999; Piętka et al. 2019).

Podle současné taxonomie řadíme mezi korálovce 22 druhů: *Hericium abietis*, *H. agaricinum*, *H. alpestre* (*H. flagellum*), *H. americanum*, *H. barbatum*, *H. bembedjaense*, *H. bharengense*, *H. botryoides*, *H. caucasicum*, *H. cirrhatum*, *H. clathroides*, *H. coralloides*, *H. erinaceus*, *H. fimbriatum*, *H. fragile*, *H. mori*, *H. muscoides*, *H. novae-zealandiae*, *H. ptychogasteroides*, *H. rajchenbergii*, *H. rajendrae*, *H. yumthangense* (Mycobank 2021). Dále budou rozebrány nejdůležitější druhy a jejich charakteristika.

V Evropě se vyskytuje korálovec ježatý (*Hericium erinaceus*), korálovec bukový (*Hericium coralloides*), korálovec jedlový (*Hericium flagellum*) a ježatec různozubý (*Hericium cirrhatum*). Korálovec ježatý (*H. erinaceus*) roste vzácně, na kmenech či pařezech buků a dubů, v lesích a parcích. Plodnice je kompaktní, nepravidelně kulovitá až vejčitá, její povrch je pokryt šupinatými ostny. Výtrusy mají široce elipsoidní tvar o velikosti 5–7 × 4–6 μm. Korálovec bukový (*H. coralloides*) roste roztroušeně, na padlých kmenech buků a dubů, hlavně v bučinách a pralesích. Plodnice je nepravidelná, korálovitě větvená, na dřevo přirůstá třenovitou bází. Na povrchu plodnice jsou hojné tenké a špičaté ostny. Výtrusy mají elipsoidní tvar o velikosti 3,5–5 × 2,5–4 μm. Korálovec jedlový (*H. flagellum*) roste roztroušeně, na odumřelém dřevě jehličnanů, především jedlí. Vyskytuje se zejména v pralesovitých rezervacích, u nás například v Boubínském nebo Žofínském pralesi. Plodnice je korálovitě větvená, s mohutnými větvemi, z jejichž konců vyrůstají svazky ostnů. Výtrusy mají široce elipsoidní až kulovitý tvar o velikosti 5–6,5 × 4–5,5 μm. Ježatec různozubý (*H. cirrhatum*) roste vzácně, na kmenech a pařezech listnáčů, hlavně buků. Typickým stanovištěm jsou hospodářsky využívané bučiny. Plodnice je tvořena několika škeblovitými až vějířovitými klobouky přirostlými dohromady na bázi, jejich povrch je hrbokatý s tupými ostny. Výtrusy mají kulovitý tvar o velikosti 3,5–4,5 × 3–4 μm (Holec et al. 2012).

V České republice se korálovce vyskytují vzácně. Korálovec ježatý je uveden v Červeném seznamu hub (makromycetů) České republiky (Holec & Beran 2006) v kategorii VU – zranitelný druh. Korálovec jedlový a ježatec různozubý jsou zařazeny do kategorie NT –

téměř ohrožený druh. Žádný druh korálovce není mezi chráněnými houbami ČR podle vyhlášky č. 395/1992 Sb. zákona 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny (Antonín et al. 1995). Korálovec ježatý a korálovec jedlový jsou však zařazeny do seznamu druhů, které by měly být zahrnuty do novely vyhlášky (Holec et al. 2012).

V Severní Americe se vyskytuje korálovec americký (*Hericium americanum*). Roste hlavně na odumřelých kmenech a pařezech listnáčů, východně od Velkých planin. Plodnice je korálovitě větvená a na povrchu má hustě uspořádané ostny, které rostou v trsech či řadách. Výtrusy mají elipsoidní tvar o velikosti  $6,5-7 \times 6-7 \mu\text{m}$  (Ginns 1985).

V Indii se vyskytují *Hericium bharengense* a *Hericium yumthangense*. Druh *H. bharengense* roste na jedlovcí himalájském (*Tsuga dumosa*, Pinaceae) a výtrusy mají velikost  $4 \times 4,9 \mu\text{m}$  (Das et al. 2011). *H. yumthangense* roste na jedli (*Abies densa*, Pinaceae) a má výtrusy o velikosti  $5,3-6,5 \times 4,0-5,5 \mu\text{m}$  (Das et al. 2013).

V tropických deštných lesech Kamerunu se nachází *Hericium bembedjaense*. Specifický je přítomností pleurocystidií a velikostí výtrusů  $2,6-3,0 \times 1,7-2,2 \mu\text{m}$ , roste na listnatých stromech (typicky *Gilbertiodendron dewevrei*) (Jumbam et al. 2019).

Velmi vzácně se korálovce vyskytují i na jižní polokouli. Například z Argentiny je známý *Hericium rajchenbergii*, který roste na litree (*Lithraea molleoides*, Anacardiaceae) a má výtrusy o velikosti  $4,5-5,0 \times 3,0-4,0 \mu\text{m}$  (Hallenberg et al. 2013).

### 3.1.1 Chemické složení

Vědecké studie se věnují především analýzám korálovce ježatého (*H. erinaceus*). Jeho chemické složení v sušeném stavu je 61,3 % sacharidů, 18,8 % bílkovin a 2,9 % tuků. Organické sloučeniny tvoří 83 % sušiny, popeloviny 6,91 % a vázaná voda 10,11 % (Rodrigues et al. 2015). Starší studie pracovala s planě rostoucím korálovcem, kdy stanovila obsah sacharidů na 57 %, bílkovin 22,3 %, tuků 3,5 %, popelovin 9,4 % a vázané vody 4,3 % (Mau et al. 2001). Studie Cohen et al. (2014) srovnávala rozdíl mezi složením plodnice a mycelia, přičemž zjistila, že plodnice v sušeném stavu obsahuje 61,1 % sacharidů, 20,8 % bílkovin, 5,1 % tuků, 6,8 % popelovin a 6,2 % vázané vody, zatímco sušina mycelia obsahuje 42,9 % sacharidů, 42,5 % bílkovin, 6,3 % tuků, 4,4 % popelovin a 3,9 % vázané vody. Energetická hodnota sušené plodnice je 374 kcal/100 g a sušeného mycelia 398 kcal/100 g. Korálovec je také zdrojem makroelementů i mikroelementů (konkrétně vápníku, hořčíku, sodíku, fosforu, síry, železa, chromu, kobaltu, mědi, manganu, molybdenu, selenu a zinku) (Cohen et al. 2014; Rodrigues et al. 2015).

### 3.1.2 Biologicky aktivní látky

Korálovec ježatý (*H. erinaceus*) je zajímavý z farmaceutického a farmakologického hlediska především díky obsahu biologicky účinných látek, mezi které patří polysacharidy, hericenony, erinaciny, ergothionein, lektiny, steroly a silice (Friedman 2015; Venturella et al. 2021; Winder et al. 2021).

### 3.1.2.1 Polysacharidy

Polysacharidy jsou stavební jednotkou buněčné stěny hub. Většinou se řadí mezi primární metabolity, ale některé se mohou díky své biologické aktivitě považovat i za sekundární metabolity (Devi et al. 2020). Množství polysacharidů je u korálovce vyšší v plodnici než v myceliu (Mori et al. 1998). U korálovce ježatého (*H. erinaceus*) jsou nejhojnějšími polysacharidy alfa-glukany a beta-glukany (Rodrigues et al. 2015). Důležité jsou i komplexy polysacharidů a bílkovin, neboli glykoproteiny (Zhao et al. 2020). Z korálovce ježatého bylo doposud izolováno více než 35 polysacharidů (He et al. 2017). Z hlediska biologické aktivity jsou nejzajímavější HEP, EP-1 a HEG-5 (Winder et al. 2021). Polysacharid HEP má imunomodulační aktivitu, která byla zkoumána na imunitní funkci střev myší. HEP při koncentraci 150 mg/kg podněcuje mitogenem aktivovanou proteinovou kinázu, čímž zvyšuje proliferaci lymfocytů a při koncentraci 300 mg/kg aktivuje proteinkinázu B, čímž zlepšuje aktivitu *natural killer* buněk i makrofágů a podporuje sekreci IgA (Sheng et al. 2017). Dále HEP prokazuje protirakovinnou, antioxidační, gastroprotektivní, hepatoprotektivní, neuroprotektivní aktivitu a snižuje hyperglykémii i hyperlipidémii (Wang et al. 2019b).

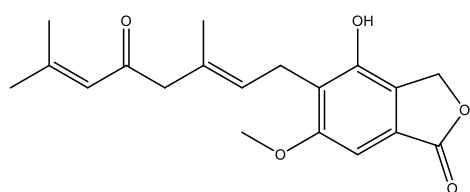
Exopolysacharid EP-1 indukuje apoptózu prekancerózních buněk MC a zastavuje jejich buněčný cyklus v G1/G0 fázi, zatímco zdravé lidské buňky žaludku GES-1 nepoškozují (Wang et al. 2017).

Glykoprotein HEG-5 má hemaglutinační a protirakovinnou aktivitu. Poměr polysacharidů a proteinů u HEG-5 je 1 : 10 a převládá struktura  $\beta$ -skládaného listu (Cui et al. 2014). Aktivita glykoproteinu HEG-5 byla zkoumána na lidských žaludečních rakovinných buňkách SGC-7901, u kterých způsobuje zástavu buněčného cyklu v S fázi a podněcuje apoptózu. Inhibice růstu dosahuje 93,4 % po 48 h při působení koncentrace 200  $\mu\text{g/mL}$ . Inhibiční koncentrace  $\text{IC}_{50}$  po 24 h byla stanovena na 107,4  $\mu\text{g/mL}$  a po 48 h na 46,7  $\mu\text{g/mL}$  (Zan et al. 2015). Tyto výsledky pochází hlavně z *in vitro* podmínek, takže je otázkou, jakou aktivitu budou polysacharidy prokazovat v klinických studiích.

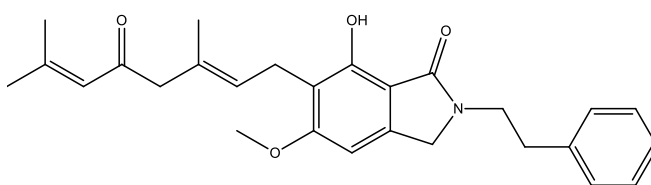
### 3.1.2.2 Hericenony

Hericenony jsou deriváty benzyl alkoholu, které se vyskytují v plodnici korálovce ježatého (*H. erinaceus*), patří mezi sekundární metabolity (Venturella et al. 2021). Jsou popsány hericenony A, B (Kawagishi et al. 1990), C, D, E (Kawagishi et al. 1991), F, G, H (Kawagishi et al. 1992a), I, J (Ueda et al. 2008), K (Zhang et al. 2015), L (Ma et al. 2012), hericeny A–C (Arnone et al. 1994), D–H (Chen et al. 2020a), 3-hydroxyhericenon F (Ueda et al. 2008), hericerin (Kimura et al. 1991), isohericenon (Kim et al. 2012a), isohericerin (Miyazawa et al. 2012), hericerin A, isohericenon J (Li et al. 2015b), isohericerinol A (Ryu et al. 2021). Chemické struktury vybraných hericenonů jsou zobrazeny na Obrázku 1.

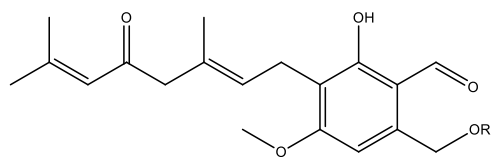
Hericenony A a B projevují *in vitro* cytotoxickou aktivitu proti buňkám HeLa. Minimální koncentrace potřebná pro úplnou inhibici růstu buněk byla pro hericenon A 100  $\mu\text{g/mL}$  a pro hericenon B 6,3  $\mu\text{g/mL}$  (Kawagishi et al. 1990). Hericenon L vykazuje cytotoxickou aktivitu vůči buněčné linii EC109 s hodnotou  $\text{IC}_{50}$  46  $\mu\text{g/L}$  (Ma et al. 2012). Hericenon I inhibuje rakovinné buněčné linie SH-SY5Y, 1321N1, HCT-116, Caco-2, OVK18 a HeLa s hodnotami  $\text{IC}_{50}$  36,69, 41,66, 7,66, 49,53, 0,99 a 25,94  $\mu\text{M}$  (Ashour et al. 2019).



Hericenon A



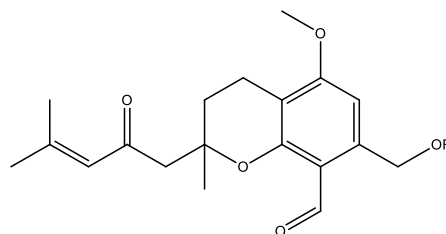
Hericenon B



Hericenon C: R = palmitoyl

Hericenon D: R = stearoyl

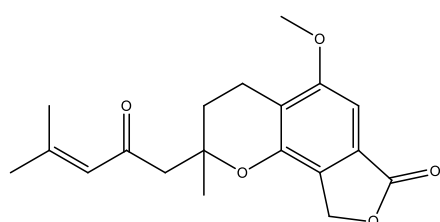
Hericenon E: R = linoleoyl



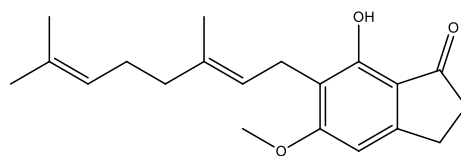
Hericenon F: R = palmitoyl

Hericenon G: R = stearoyl

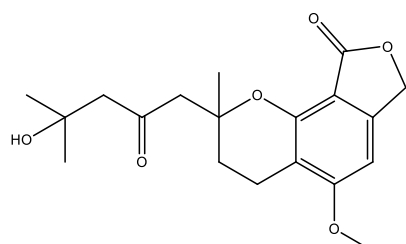
Hericenon H: R = linoleoyl



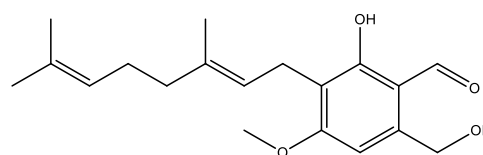
Hericenon I



Hericenon J



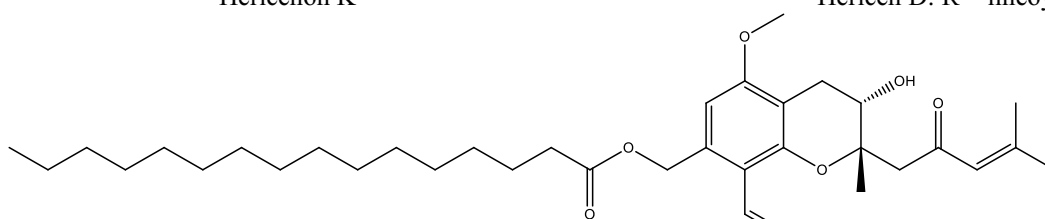
Hericenon K



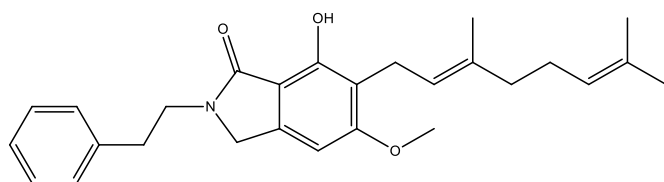
Hericen A: R = palmitoyl

Hericen B: R = oleoyl

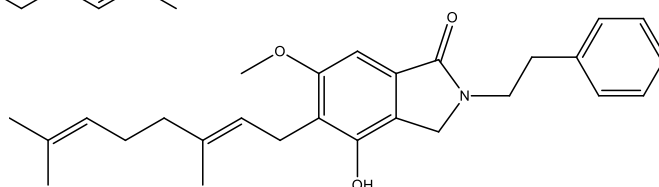
Hericen D: R = lineoyl



3-Hydroxyhericenon F



Hericerin



Isohericerin

**Obrázek 1:** Chemické struktury vybraných hericenonů

Hericenony C, D, E, H stimulují syntézu nervového růstového faktoru (NGF) *in vitro* (Kawagishi et al. 1991, 1992a). NGF je peptid, který je zásadní pro zachování, růst, organizaci a správnou funkci neuronů (Obara & Nakahata 2002; Ma et al. 2010). Nedostatek NGF je spojován s Alzheimerovou nemocí (Allen & Dawbarn 2006). Při koncentraci 33 µg/mL hericenonu C produkovaly myšičí astrocyty 23,5 pg/mL NGF, při téže koncentraci hericenonu D, E, H produkovaly 10,8, 13,9 a 45,1 pg/mL NGF (Kawagishi et al. 1991, 1992a).

Hericenony C, E, F, G a hericen B vykazují *in vivo* inhibiční aktivitu vůči  $\alpha$ -glukosidáze (Chen et al. 2020a). Hericenon D a hericeny A, D inhibují enzym  $\alpha$ -glukosidázu *in vitro* s hodnotami  $IC_{50}$  15,5, 6,7 a 3,9 µM (Lee et al. 2020). Tyto sloučeniny mají proto potenciál sloužit jako doplněk stravy či léčivo pro pacienty s diabetem.

Hericeny A, B, C inhibují *in vitro* nukleární faktor kappa B (NF- $\kappa$ B). NF- $\kappa$ B je důležitý transkripční faktor, který ovlivňuje expresi genů zásadních pro imunitní systém a zánětlivou odpověď organismu. Při nadměrné aktivaci reaktivními druhy kyslíku (ROS), faktorem nádorové nekrózy  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukinem 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), kokainem nebo ionizujícím zářením se může podílet na vzniku zánětlivých onemocněních a rakoviny (Li et al. 2014a).

3-Hydroxyhericenon F vykazuje ochrannou aktivitu proti smrti N2a buněk způsobenou stresem endoplazmatického retikula (Ueda et al. 2008). Také inhibuje produkci ROS, snižuje hladinu prozánětlivých cytokinů (IL-1 $\beta$ , IL-17 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ), reguluje expresi NF- $\kappa$ B a cyklooxygenáz (COX-1 a COX-2) a má potenciál inhibovat  $\beta$ -sekretázu (Diling et al. 2017a).

Hericerin a hericerin A inhibují proliferaci buněk lidské akutní promyelocytární leukemie HL-60 při  $IC_{50}$  5,47 µM hericerinu a 3,06 µM hericerinu A. Dále navozují apoptózu rakovinných buněk *down* regulací proteinkinázy B (Li et al. 2015b).

Isohericenon a isohericerin projevují *in vitro* cytotoxickou aktivitu. Isohericenon inhibuje buněčné linie A549, SK-OV-3, SK-MEL-2 a HCT-15 při  $IC_{50}$  2,6, 3,1, 1,9 a 2,9 µM. Isohericerin inhibuje stejné buněčné linie při  $IC_{50}$  21, 8,9, 3,1 a 19 µM (Kim et al. 2012a).

Isohericerinol A významně zvyšuje produkci NGF v C6 buněčné linii gliomu. Podobnou, avšak slabší aktivitu vykazuje také corallocin A a hericerin. Zvýšená produkce NGF těmito sloučeninami podporuje růst axonů N2a nervových buněk (Ryu et al. 2021).

Hericenony mají díky svým výše popsaným biologickým aktivitám potenciál především pro podporu mozkové činnosti, zlepšení kognitivních funkcí (možné využití jako nootropika) a pro léčbu úzkostí, deprese, neurodegenerativních onemocnění (hlavně Alzheimerovy choroby). Avšak schopnost jednotlivých hericenonů navodit růst nervových buněk byla prokázána pouze *in vitro*, takže je potřeba potvrdit aktivitu *in vivo* a klinickými studiemi.

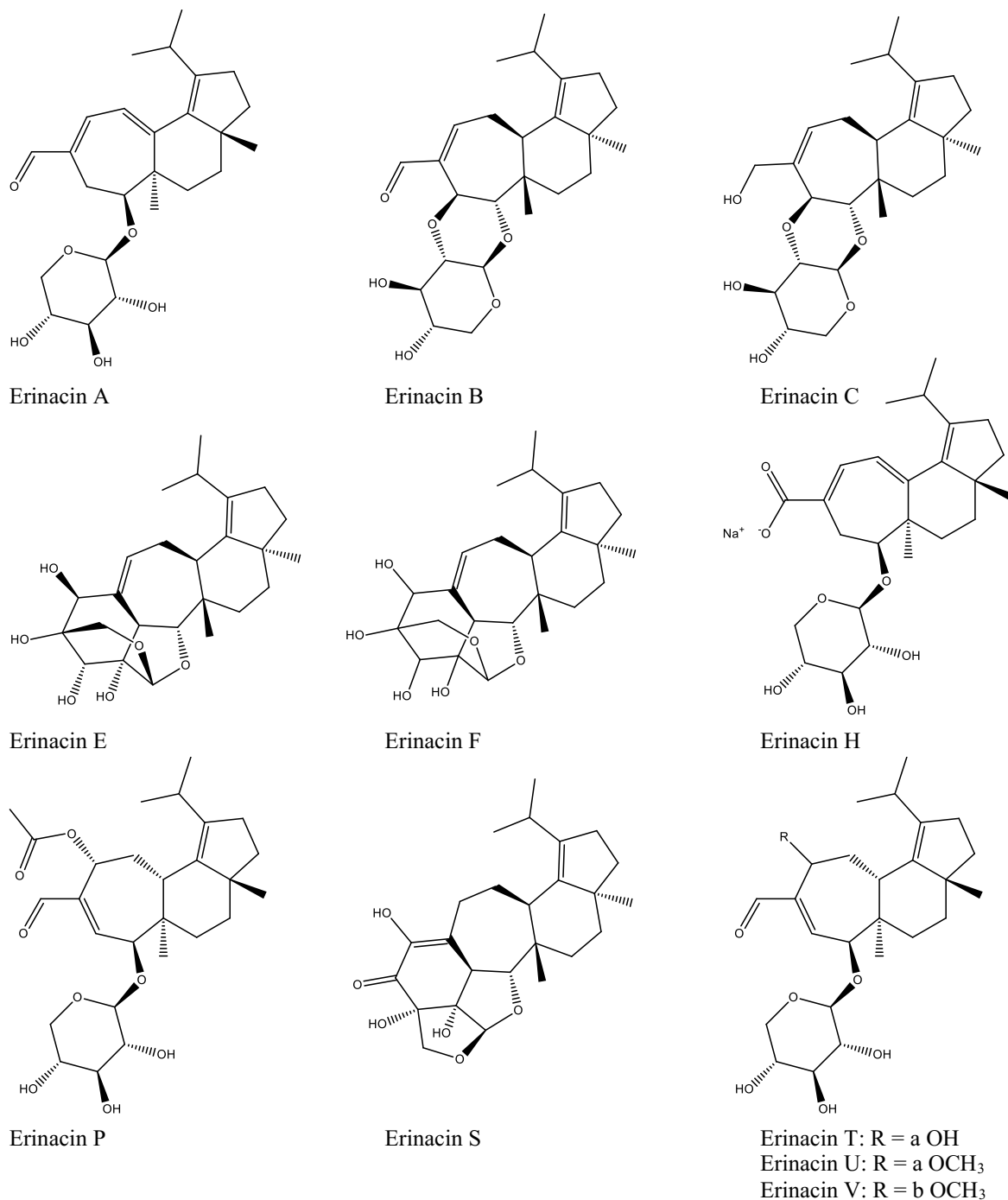
### 3.1.2.3 Erinaciny

Erinaciny jsou diterpeny, které se vyskytují v myceliu korálovce ježatého (*H. erinaceus*), patří mezi sekundární metabolity (Venturella et al. 2021). Jsou popsány erinaciny A, B, C (Kawagishi et al. 1994), D (Kawagishi et al. 1996b), E, F, G (Kawagishi et al. 1996a), H, I (Lee et al. 2000), J, K (Kawagishi et al. 2006), P (Kenmoku et al. 2000), Q (Kenmoku et al. 2002), R (Ma et al. 2008), S (Chen et al. 2016), T, U, V (Zhang et al. 2018), Z1 (Rupcic et al. 2018). Chemické struktury vybraných erinacinů jsou zobrazeny na Obrázku 2.

Erinaciny A, B, C, D, E, F, H stimulují syntézu NGF *in vitro*. Erinaciny A, B a C při koncentraci 1,0 mM podněcují myšičí astrocyty k produkci NGF v množstvích 250,1 pg/mL,

129,7 pg/mL a 299,1 pg/mL (Kawagishi et al. 1994). Erinacin D při koncentraci 1,67 mM stimuluje myší astrocyty k syntéze 141,5 pg/mL NGF (Kawagishi et al. 1996b). Erinaciny E a F při koncentraci 5,0 mM stimuluje astrocyty k produkci 105 a 175 pg/mL NGF (Kawagishi et al. 1996a). Erinacin H v koncentraci 33,3  $\mu\text{g/mL}$  podněcuje astrocyty k syntéze 31,5 pg/mL NGF, což je pětinasobek oproti kontrolnímu vzorku bez erinacinu (Lee et al. 2000).

Erinaciny mohou stimulovat také tvorbu dalšího neurotrofinu, a to mozkového neurotrofního faktoru (BDNF). Erinacin C při koncentraci 3  $\mu\text{g/mL}$  *in vitro* významně zvyšuje obsah BDNF v buněčné linii 1321N1. Erinaciny A, B, C a Z1 zvyšují produkci neurotrofinů v astrocytech (Rupcic et al. 2018).



**Obrázek 2:** Chemické struktury vybraných erinacinů

Erinacin A zvyšuje obsah NGF a katecholaminů *in vivo* v centrální nervové soustavě u myši. Myši, kterým byl podán erinacin A v dávce 8 mg/kg, měly prokazatelně víc NGF v centrální nervové soustavě než dvě kontrolní skupiny (Shimbo et al. 2005). Dále erinacin A u myši *in vivo* snižuje zátěž amyloidu beta na mozek a zvyšuje hladinu inzulinázy (IDE) (Chen et al. 2016; Tzeng et al. 2018). Chen et al. (2016) podávali 30 mg/kg po dobu 30 dní, zátěž amyloidu beta byla snížena o 38,1 % a hladina IDE byla zvýšena o 141,1 %. Tzeng et al. (2018) podávali taktéž 30 mg/kg po dobu 30 dní, zaznamenali snížení počtu i velikosti amyloidních plaků a zvýšení hladiny IDE o 303,5 %. Erinacin A má také protinádorový potenciál, aktivuje produkci reaktivních druhů kyslíku (ROS) a proteinu p21, čímž inhibuje růst rakovinných buněk (Lu et al. 2016; Kuo et al. 2017; Lee et al. 2019). Lu et al. (2016) pracovali *in vitro* s lidskými buňkami kolorektálního karcinomu DLD-1 a HCT-116, kterých po ošetření 10  $\mu$ M erinacinu A po dobu 24 h přežilo 65 % a 55 %. Zkoumali také efekt 1 mg, 2 mg a 5 mg u myši *in vivo*, u kterých po 18 dnech bylo inhibováno 66 %, 51 % a 42 % rakovinných buněk. Kuo et al. (2017) potvrdili *in vitro*, že při léčbě lidských buněk rakoviny žaludku MKN28 a TSGH9201 erinacinem A v koncentraci 1–10  $\mu$ M dojde za 6 h k produkci superoxidu a za 24 h k signifikantní inhibici růstu rakovinných buněk.

Erinacin C vykazuje kromě neuroprotektivní aktivity i aktivitu protizánětlivou. Při působení 2,5  $\mu$ M erinacinu C na mikroglie BV2 zasažené lipopolysacharidem *in vitro* dochází k inhibici produkce oxidu dusnatého (NO) o 31 %, snížení hladiny IL-6 o 50 %, poklesu TNF- $\alpha$  o 23 % a inhibici exprese syntázy oxidu dusnatého (iNOS) o 40 %. Navíc inhibuje transkripci NF- $\kappa$ B (Wang et al. 2019a).

Erinacin S zmenšuje amyloidní plaky a zvyšuje hladinu IDE u myši *in vivo* (Chen et al. 2016; Tzeng et al. 2018). Chen et al. (2016) podávali 30 mg/kg erinacinu S po dobu 30 dní, zátěž amyloidu beta byla snížena o 40,2 % a hladina IDE byla zvýšena o 130,5 %. Tzeng et al. (2018) podávali též 30 mg/kg po dobu 30 dní, zaznamenali signifikantní zmenšení velikosti amyloidních plaků a zvýšení hladiny IDE o 269,8 %. Erinacin S dále navozuje apoptózu rakovinných žaludečních buněk *in vitro*, zatímco zdravé buňky nepoškozuje. Protirakovinná aktivita byla pozorována také *in vivo*, kdy erinacin S měl inhibiční účinek na růst žaludečního nádoru u myši s xenograftem AGS (Tung et al. 2021).

Erinaciny T, U, V a P významně podporují růst neuritů buněčné linie PC12 *in vitro* v rozmezí koncentrací 2,5–10  $\mu$ M. Zastoupení buněk s neurity po ošetření erinaciny T, U, V a P v koncentraci 10  $\mu$ M bylo 43,7 %, 76,31 %, 65,3 % a 48,3 %, po ošetření NGF v koncentraci 40 ng/mL bylo zastoupení 40,3 % (Zhang et al. 2018).

Erinaciny (i hericenony) jsou nízkomolekulární látky, které mohou projít hematoencefalickou bariérou (na rozdíl od NGF) a mají tak potenciál v léčbě neurodegenerativních onemocnění (Alzheimerovy a Parkinsonovy choroby). Bohužel jejich přesný mechanismus stimulace syntézy NGF není znám (Ma et al. 2010). Na základě výsledků *in vitro* se začínají provádět klinické studie ověřující účinek korálovce ježatého na neurodegenerativní nemoci, které mají zatím slibné výsledky (Mori et al. 2009; Li et al. 2020). Korálovec ježatý je dále zkoumán v preklinických *in vivo* a klinických studiích jako možná léčba duševních poruch (úzkostí, deprese, poruch spánku, záchvatovitého přejídání) (Nagano et al. 2010; Vigna et al. 2019) a poranění periferních nervů (Üstün et al. 2018).



### 3.1.2.4 Erinapyrony, erinaceriny a další

Erinapyrony, erinaceriny a erinaceolaktony jsou sekundární metabolity izolované z kultury korálovce ježatého. Erinapyrony jsou  $\gamma$ -pyrony a jsou popsány erinapyrony A, B (Kawagishi et al. 1992b) a C (Arnone et al. 1994). Erinapyrony A a B působí cytotoxicky proti HeLa buňkám. Úmrtí buněk je způsobeno koncentracemi 0,88 mM erinapyronu A a 1,76 mM erinapyronu B (Kawagishi et al. 1992b). Erinapyron C vykazuje mírnou aktivitu proti gram pozitivním bakteriím (Arnone et al. 1994).

Erinaceriny jsou chemicky isoindolin-1-ony a jsou známé erinaceriny A, B (Yaoita et al. 2005), C–L (Wang et al. 2015b), M–T (Wang et al. 2015a). Erinaceriny D–L inhibují  $\alpha$ -glukosidázu při  $IC_{50}$  mezi 5,3 a 145,1  $\mu$ M (Wang et al. 2015b) a erinaceriny Q–T při  $IC_{50}$  mezi 12,7 a 23,3  $\mu$ M (Wang et al. 2015a). Erinaceriny A, M, N, O, P vykazují cytotoxickou aktivitu (Kim et al. 2012a; Wang et al. 2015a; Zhang et al. 2020).

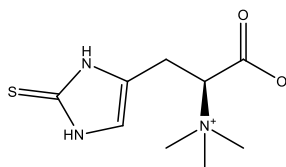
Erinaceolaktony jsou z chemického hlediska cyklické estery karboxylových kyselin. Jsou popsány erinaceolaktony A–C, z nichž první dva vykazují inhibiční efekt na růst rostlin. Erinaceolakton A inhibuje růst kořenu salátu při dávce 1  $\mu$ mol na filtrační papír o průměru 55 mm a erinaceolakton B při 100 nmol (Wu et al. 2015).

Erinaceolaktamy A–E jsou isoindoliny izolované z ethanolového extraktu plodnice korálovce ježatého. Erinaceolaktamy mají cytotoxický potenciál (Wang et al. 2016).

Dalšími sekundárními metabolity izolovanými z korálovce ježatého jsou erinacenoly A–D a erinacen D. Erinacenoly pochází z plodnice a inhibují *in vitro*  $\alpha$ -glukosidázu s hodnotou  $IC_{50}$  19,6  $\mu$ M (Lee et al. 2020). Erinacen D je z chloroformového extraktu a *in vitro* vykazuje inhibiční transkripce NF- $\kappa$ B (Li et al. 2014a).

### 3.1.2.5 Ergothionein

Ergothionein je thionový derivát aminokyseliny histidinu, chemická struktura je zobrazena na Obrázku 3. Je syntetizován některými bakteriemi a houbami. Vykazuje slibnou antioxidační a cytoprotektivní aktivitu v testech *in vitro*. Lidé jej mohou přijímat ve stravě, načež v těle se absorbuje prostřednictvím specifického transportéru OCTN1 (*organic cation transporter, novel type-1*) a akumuluje se v červených krvinkách i v určitých tkáních (v játrech, slinivce, ledvinách, kostní dřeni, mozku a oku) (Halliwell et al. 2018). Dalšími pozitivními vlastnostmi ergothioneinu jsou chemická stabilita a pomalé vylučování z organismu. Mohl by sloužit jako prevence či podpůrná léčba při neurodegenerativních a kardiovaskulárních onemocněních, dále při nemocích očí a ledvin a možná také diabetu a rakovině (Cheah & Halliwell 2021).



**Obrázek 3:** Ergothionein

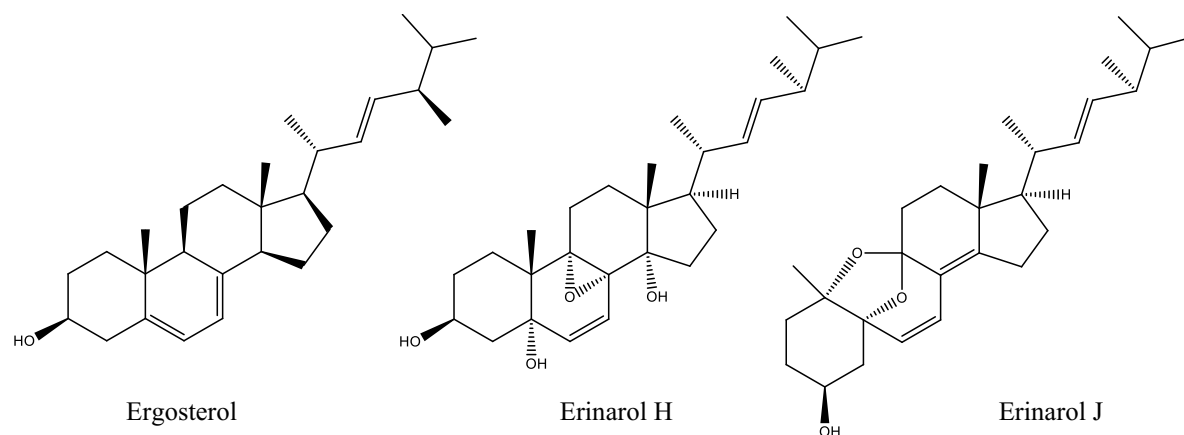
Ergothionein se vyskytuje v plodnici i myceliu korálovce ježatého. Obsah v plodnici může být 1,12 mg/g (Kalaras et al. 2017), 0,96 mg/g (Lee et al. 2009) až 0,34 mg/g v sušině. Obsah v myceliu se pohybuje kolem 0,58 mg/g v sušině (Roda et al. 2021). Z pohledu množství ergothioneinu se jako zajímavé jeví primordium (zárodek plodnice) korálovce s obsahem 1,30 mg/g, přičemž zastoupení hericenů A, B, C a D je srovnatelné s plodnicí i myceliem, avšak oproti myceliu chybí erinacin A a oproti plodnici má primordium nedostatek hericenonů C a D (Roda et al. 2022).

### 3.1.2.6 Lektiny

Lektiny jsou proteiny neimunitního původu, které se váží na cukry a některé mají schopnost aglutinovat. Li et al. (2010) izolovali ze sušené plodnice korálovce ježatého nový lektin HEA (*H. erinaceus* aglutinin) s hemaglutinační aktivitou. U myších splenocytů HEA iniciuje mitózu. Zastavuje proliferaci buněk lidského hepatocelulárního karcinomu HepG2 při  $IC_{50}$  56,1  $\mu$ M a buněk rakoviny prsu MCF7 při  $IC_{50}$  76,5  $\mu$ M. Rovněž bylo zjištěno, že HEA inhibuje reverzní transkriptázu viru HIV-1 při  $IC_{50}$  31,7  $\mu$ M (Li et al. 2010).

### 3.1.2.7 Steroly

Steroly jsou steroidní alkoholy, v buněčných membránách hub se vyskytují tzv. mykosteroly. Nejznámějším mykosterolem je ergosterol (provitamin D<sub>2</sub>, viz Obrázek 4), který se nachází právě i v korálovci ježatém (Avtonomova et al. 2012). Obsah ergosterolu v korálovci je poměrně nízký, lze ale signifikantně zvýšit kultivací spolu s kyselinou salicylovou nebo methyl-jasmonátem. Při šestidenní kultivaci s kyselinou salicylovou v koncentraci 100  $\mu$ mol/L byl obsah ergosterolu 2,33 mg/g a při čtyřdenní kultivaci s methyl-jasmonátem v koncentraci 50  $\mu$ mol/L byl obsah ergosterolu 1,988 mg/g (Dai et al. 2015). Působením ultrafialového záření na ergosterol (v kůži) vzniká ergokalciferol, ten je následně v játrech přeměněn na 25-hydroxyergokalciferol, který je krví převeden do ledvin, kde vzniká aktivní forma 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyergokalciferol. Ergokalciferol má potenciálně imunomodulační aktivitu, avšak pravděpodobně menší než cholekalciferol (Alswailmi et al. 2021; Durrant et al. 2022). Jeho suplementace může mít pozitivní vliv na průběh autoimunitních nemocí (zejména idiopatických střevních zánětů, roztroušené sklerózy a revmatoidní artritidy) (Goldsmith 2015).



**Obrázek 4:** Chemické struktury sterolů izolovaných z korálovce

Erinaroly jsou estery sterolů izolované z metanolového extraktu sušených plodnic korálovce ježatého. Jsou popsány erinaroly A–F (Li et al. 2014c), G–J (Li et al. 2015a). Erinaroly H a J *in vitro* vykazují protizánětlivou aktivitu inhibicí TNF- $\alpha$  a erinarol J navíc inhibicí NO (Li et al. 2015a). Jejich chemické struktury jsou zobrazeny na Obrázku 4.

### 3.1.2.8 Silice

Silice jsou těkavé, intenzivně vonící směsi přírodních látek. Silice korálovce ježatého se skládá především z kyseliny hexadekanové (26,0 %), kyseliny linolové (13,1 %), fenylacetaldehydu (8,9 %) a benzaldehydu (2,5 %). Na typickém aromatu korálovce ježatého se podílí hlavně 2-methyl-3-furanthiol, 2-ethylpyrazin a 2,6-diethylpyrazin, které se vyskytují v korálovci ve stopovém množství (Miyazawa et al. 2008). 2-Methyl-3-furanthiol vykazuje antioxidační aktivitu, navíc v koncentraci 12,5  $\mu$ M působí synergicky s  $\alpha$ -tokoferolem (Eiserich et al. 1995).

### 3.1.3 Tradiční využití v lidovém léčitelství

„Léky a potraviny mají společný původ“, praví staré čínské přísloví, které platí obzvláště pro houby (Chang & Wasser 2012). Houby jsou pro své specifické sensorické vlastnosti (chuť a textura) oblíbenou součástí lidských jídelníčků po tisíce let (Rajarathnam & Shashirekha 2003; Miyazawa et al. 2012). V dnešní době je známo, že jsou také nutričně přínosné, jsou zdrojem bílkovin, chitinu (nerozpustné vlákniny), vitaminů (thiaminu, riboflavinu, niacinu, kyseliny askorbové, ergosterolu) a minerálních látek (fosforu, železa) (Chang & Wasser 2012). Některé houby se navíc tradičně uplatňují při léčbě různých onemocnění. Na základě této skutečnosti se od druhé poloviny 20. století provádějí vědecké studie, které v léčivých houbách potvrdily přítomnost specifických biologicky aktivních látek.

Mezi výše popsané houby se řadí mimo jiné rod korálovec. Korálovec ježatý je tradičně využíván především ve východní Asii ke kulinářským i medicínám účelům. V Číně se používá více než 1000 let a v dalších východoasijských zemích po mnoho desetiletí (Thongbai et al. 2015). V Japonsku je díky své charakteristické plodnici nazýván *yamabushitake* (horský mnich), v Číně *hou tou gu* (opičí hlava) a v Severní Americe *lion's mane* (lví hřívá) (Inanaga 2012).

Tradiční využití korálovce ježatého v čínském lidovém léčitelství je shrnuto v Tabulce 1. Ze starověkého čínského léčitelství se vyvinul medicínský systém označovaný jako tradiční čínská medicína (TCM). TCM využívá korálovce ježatého hlavně k léčbě zažívacích obtíží, dále k léčbě onemocnění pěti orgánů (jater, plic, sleziny, srdce a ledvin) a podpoře celkového elánu a síly (Spelman et al. 2017). Specifickým problémem v TCM, na který se také používá korálovec ježatý, je tzv. *qi* (čchi) deficeience. Jedná se o nedostatek životní energie, který se projevuje celkovou i svalovou slabostí, únavou, nespavostí a řadou gynekologických problémů (Chiang et al. 2014; Spelman et al. 2017).

**Tabulka 1:** Přehled onemocnění, pro jejichž prevenci i léčbu se v Číně tradičně využíval korálovec ježatý (*H. erinaceus*)

<b>Onemocnění</b>	<b>Reference</b>
Dyspepsie	(Pegler 2003; Miyazawa et al. 2012)
Žaludeční vředy	(Pegler 2003; Miyazawa et al. 2012; Winder et al. 2021)
Akutní zánět žaludku	(Wang et al. 2017; Winder et al. 2021)
Hypertenze	(Thongbai et al. 2015)
Hyperglykémie	(Thongbai et al. 2015)
Rakovina	(Thongbai et al. 2015; Spelman et al. 2017)
Nervová slabost	(Thongbai et al. 2015)
Vyčerpání	(Miyazawa et al. 2012; Thongbai et al. 2015)

Japonské tradiční léčitelství připisuje korálovcvi ježatému pozitivní vliv na slezinu i střeva, léčivé účinky na zažívací potíže, žaludeční vředy, nervovou slabost a rakovinu (Rajarithnam & Shashirekha 2003; Spelman et al. 2017).

## **3.2 Biologická aktivita**

Léčivé houby vykazují celou řadu biologických aktivit, například antioxidační, protizánětlivou, imunomodulační, antialergenní, antibakteriální, antifungální, antivirovou, cytotoxickou, protirakovinnou, antidiabetickou, hepatoprotektivní, neuroprotektivní, nefroprotektivní nebo osteoprotektivní aktivitu. Dále bylo prokázáno, že některé houby působí proti depresi, snižují krevní tlak, snižují hyperlipidemii i hyperglykémii (Guggenheim et al. 2014; Elkhateeb 2020; Jeitler et al. 2020; Venturella et al. 2021). Léčivé účinky mají houby díky řadě sekundárních metabolitů, které se nachází v myceliu či plodnici. Sekundární metabolity mohou působit v lidském těle individuálně i synergicky na řadu biologických funkcí (Venturella et al. 2021).

Rod korálovec projevuje všechny výše vyjmenované biologické aktivity (Kawagishi & Zhuang 2008; Chong et al. 2020; Venturella et al. 2021). Nejvíce vykazuje antioxidační a protizánětlivou aktivitu, v praxi má potenciál zejména k léčbě kognitivních poruch a neurodegenerativních onemocnění (Spelman et al. 2017; Venturella et al. 2021).

### **3.2.1 Antioxidační aktivita**

Antioxidační aktivita je schopnost zpomalit nebo zastavit oxidační procesy (Seifried et al. 2017). Látky vykazující antioxidační aktivitu se nazývají antioxidanty a mohou být endogenního nebo exogenního původu (Kurutas 2016). Endogenní antioxidanty se v těle vyskytují přirozeně, patří mezi ně například superoxid dismutáza, glutathion peroxidáza, kataláza, glutathion, thioredoxin, koenzym Q (Ali et al. 2020). Exogenní antioxidanty jsou přijímány v potravě (nebo ve formě doplňků stravy) a jedná se například o vitaminy C, E, A, karotenoidy, flavonoidy (Kozarski et al. 2015; Ali et al. 2020).

Oxidační procesy jsou nedílnou součástí mnoha životně důležitých procesů, například fotosyntézy nebo oxidativní fosforylace. V průběhu těchto reakcí dochází mimo jiné ke vzniku volných radikálů. Volné radikály jsou atomy, molekuly nebo ionty s nepárovým počtem elektronů, jsou nestabilní a vysoce reaktivní. Do organismu se mohou dostat také z exogenních zdrojů, mezi které patří cigaretový kouř, pesticidy, UV záření a ionizující záření (Tauchen 2019; Gulcin 2020).

Nejčastějšími oxidanty jsou reaktivní formy kyslíku (ROS), reaktivní formy dusíku (RNS) a reaktivní formy síry (RSS) (Ali et al. 2020). Způsobují oxidativní poškození lipidů, proteinů a nukleových kyselin (Taverne et al. 2013). Výše zmíněné reaktivní formy se mohou vyskytovat ve formě volných radikálů nebo neradikálových látek (Ali et al. 2020). Mezi ROS patří superoxidový radikál ( $\bullet\text{O}_2^-$ ), hydroxylový radikál ( $\text{HO}\bullet$ ), peroxylový radikál ( $\text{ROO}\bullet$ ), peroxid vodíku ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), singletový kyslík ( $^1\text{O}_2$ ), kyselina chlorná ( $\text{HOCl}$ ) (Halliwell 1994; Ali et al. 2020). Mezi RNS patří oxid dusnatý ( $\text{NO}\bullet$ ), oxid dusičitý ( $\text{NO}_2\bullet$ ), nitrosyl ( $\text{NO}^+$ ), peroxyinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ) (Halliwell 1994; Gulcin 2020). ROS mají v organismu důležitou roli, jedná se o signální molekuly, které se podílejí na mnoha procesech, včetně regulace zánětů (Halliwell 2012; Taverne et al. 2018).

Oxidační stres je důsledkem nerovnováhy ROS a antioxidantů (Kurutas 2016). Oxidační stres je často považován za původce řady onemocnění, avšak u většiny nejsou dostatečné důkazy (Tauchen 2019). Podle Halliwell (2012) oxidační stres může hrát důležitou roli při vzniku některých typů rakoviny, neurodegenerativních onemocnění (Alzheimerovy a Parkinsonovy choroby), idiopatických střevních zánětů (Crohnovy choroby a ulcerózní kolitidy) a možná aterosklerózy.

Mechanismus působení antioxidantů je dvojího typu: primární a sekundární. Primární spočívá ve vychytávání volných radikálů, příkladem je  $\alpha$ -tocopherol. Sekundární zahrnuje ostatní mechanismy: navázání kovových iontů (chelatace), vychytávání ROS, přeměna volných radikálů na neradikálové formy, deaktivace singletového kyslíku, absorpce UV záření (Gulcin 2020).

Antioxidanty mohou být syntetické nebo přírodní. Syntetické antioxidanty se využívají především v potravinářství jako konzervační látky (hlavně proti oxidaci lipidů), nejpoužívanější jsou butylhydroxytoluen, butylhydroxyanisol, terciální butylhydrochinon a propylgalát (Atta et al. 2017). Přírodní antioxidanty se přirozeně vyskytují v potravinách rostlinného původu, v ovoci, zelenině, koření, bylinkách a houbách (Brewer 2011). V posledních letech vzrůstá zájem o jedlé houby, které obsahují řadu bioaktivních sloučenin s antioxidační aktivitou, a to i když rostou ve volné přírodě nebo jsou pěstované (Kozarski et al. 2015). Antioxidační aktivita byla popsána například u rodů *Agaricus*, *Ganoderma*, *Pleurotus* a *Hericiium* (Kozarski et al. 2011; Corrêa et al. 2016).

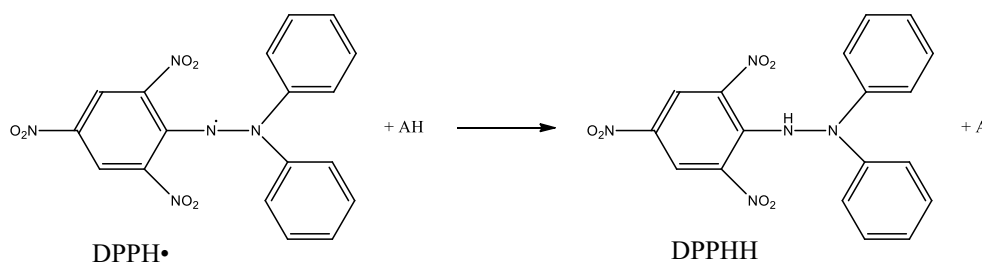
### 3.2.1.1 Metody stanovení antioxidační aktivity

*In vitro* metody pro stanovení antioxidační aktivity se mohou rozdělit podle reakčního mechanismu, kdy měří buď schopnost antioxidantu přenášet atom vodíku (HAT, *hydrogen atom transfer*), nebo přenášet jeden elektron (SET, *single electron transfer*) (Huang et al. 2005). Přehled rozdělení metod viz Tabulka 2. Nejčastěji používanými *in vitro* metodami jsou DPPH a ORAC (Alam et al. 2013).

**Tabulka 2:** Rozdělení *in vitro* metod pro stanovení antioxidační aktivity (podle Gulcin 2020)

Metody založené na HAT:
<ul style="list-style-type: none"><li>• ORAC (<i>oxygen radical absorbance capacity</i>)</li><li>• TRAP (<i>total radical trapping antioxidant parameter</i>)</li><li>• TOSCA (<i>total radical scavenging capacity assay</i>)</li><li>• Odbarvování <math>\beta</math>-karotenu (<i><math>\beta</math>-carotene bleaching assay</i>)</li><li>• Inhibice LDL oxidace (lipoprotein o nízké hustotě)</li></ul>
Metody založené na SET:
<ul style="list-style-type: none"><li>• DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl)</li><li>• FRAP (<i>ferric ion reducing antioxidant power</i>)</li><li>• TEAC (<i>trolox equivalence antioxidant capacity</i>)</li><li>• CUPRAC (<i>cupric reducing antioxidant capacity</i>)</li><li>• ABTS (2,2-azinobis-3-ethylbenzthiazolin-6-sulfonová kyselina)</li><li>• Celkový obsah fenolů pomocí Folin–Ciocalteu testu</li></ul>

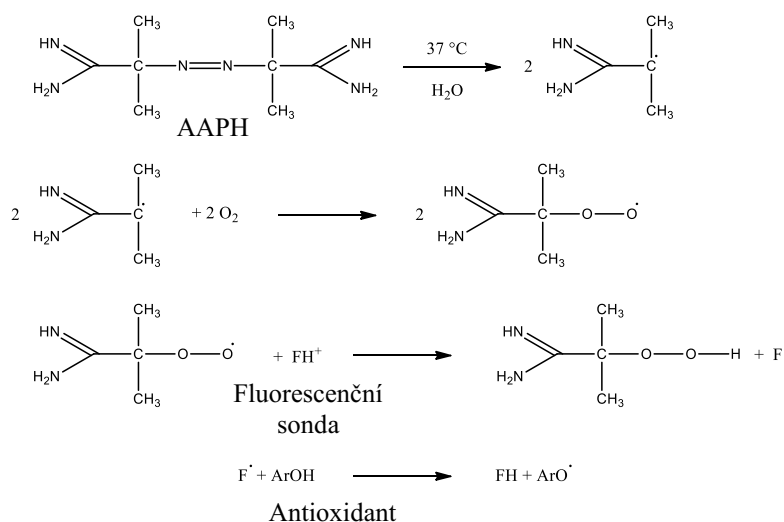
V teoretické části této práce byly využity metody DPPH a ORAC, a proto zde jsou podrobněji popsány. Metoda DPPH nese zkratku podle molekuly 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl, což je stabilní volný radikál s tmavě fialovým zbarvením. Absorbance v ethanolovém roztoku se pohybuje kolem 517 nm. V přítomnosti látky, která může darovat atom vodíku, dojde k přechodu radikálové formy na neradikálovou, viz Obrázek 5. Opticky dojde ke změně zbarvení roztoku z tmavě fialové na žlutou. Pro určení antioxidační aktivity testované látky se měří změna optické hustoty DPPH radikálů. Mezi výhody této metody patří rychlost, jednoduchost a cenová dostupnost. Naopak nevýhodou může být ztížená interpretace výsledků, protože na absorbanci DPPH má kromě antioxidační látky vliv také světlo, kyslík, pH a typ rozpouštědla (Kedare & Singh 2011; Alam et al. 2013).



**Obrázek 5:** Reakce DPPH s antioxidantem za vzniku difenylpikrylhydrazinu

Metoda ORAC je založena na kompetici antioxidantu s fluorescenční sondou o reakci s peroxylovými radikály. Peroxylové radikály jsou generovány za pomoci iniciátoru 2,2-azobis-2-amidopropan-dihydrochloridu (AAPH). Vzniklé peroxylové radikály poté mohou reagovat buď s fluorescenční sondou, nebo antioxidantem. Nejčastěji používanou fluorescenční sondou je fluorescein, který je ve své nativní formě fluorescenční, ale při reakci s volnými radikály fluorescenci ztrácí. V přítomnosti antioxidantu sonda ztrácí fluorescenci pomaleji,

protože peroxylové radikály reagují s antioxidanty. Chemický princip je shrnut na Obrázku 6. Výhody metody ORAC jsou použití peroxylových radikálů, které jsou relevantní pro oxidaci lipidů a ROS v potravinách, a také kontinuální generace radikálů, která lépe odpovídá skutečnosti. Navíc tato metoda může pracovat s hydrofilními i hydrofobními antioxidanty. Nevýhodami jsou vysoká cena a vlastnosti použitých chemikálií, například AAPH je citlivý na teplotu, fluorescein je citlivý na změnu pH (Schaich et al. 2015).



**Obrázek 6:** Chemický princip metody ORAC (podle Litescu et al. 2014)

*In vivo* metody přinášejí relevantnější výsledky. Testované vzorky se většinou podávají pokusným zvířatům v předem určených dávkách. Po uplynutí dané doby se zvířata usmrtní a jejich tkáň či krev se testují příslušnými metodami. Nejčastěji používanými *in vivo* metodami jsou LPO (*lipid peroxidation assay*), CAT (*catalase assay kit*) a GSHPx (*glutathione peroxidase estimation*). Vzorky, které vykazují antioxidační aktivitu při testování *in vitro*, nemusí poté vycházet *in vivo* a opačně (Alam et al. 2013).

### 3.2.1.2 Antioxidační aktivita korálovce

Většina studií zabývajících se antioxidační aktivitou korálovce zkoumá *in vitro* extrakty z druhu *H. erinaceus*. Na antioxidační aktivitu korálovce ježatého nemá výrazný vliv způsob kultivace, ale spíše způsob zpracování mycelia a plodnice. Nejvyšší obsah fenolů a nejslibnější antioxidační aktivitu vykazují extrakty z korálovce sušeného teplem (Wong et al. 2009). Na výsledky laboratorních analýz má vliv také použité rozpouštědlo a případně i jeho teplota. Rozpouštědla se používají polární (voda, ethanol, methanol), nepolární (dichlormethan, hexan) i smíšené (methanol:dichlormethan). Někteří autoři upřednostňují pro extrakci hub používaných v tradiční čínské medicíně horkou vodu, protože lépe napodobuje praktické používání (Mau et al. 2005; Tsai et al. 2007).

Studie Abdullah et al. (2012) extrahovala korálovce ježatého v horké vodě po dobu 30 minut. Celkový obsah fenolů byl stanoven na 10,20 mg GAE/g extraktu, IC<sub>50</sub> pomocí DPPH bylo stanoven na 25,47 mg/mL a pomocí metody odbarvování β-karotenu na 8,76 mg/mL.

Inhibice peroxidace lipidů při koncentraci 10 mg/mL byla 47,52 %. Celkový antioxidační index, který byl spočítán na základě výsledků provedených testů vztažených ke kontrolnímu kvercetin (100 %), byl stanoven na 17,7 %. Ze 14 vybraných léčivých hub *H. erinaceus* vykazoval třetí nejsilnější antioxidační aktivitu, slibnější výsledky byly pozorovány u druhů *Ganoderma lucidum* a *Schizophyllum commune*.

Další studie (Ren et al. 2014) pracující s vodními extrakty testovala antioxidační aktivitu korálovce metodou DPPH a stanovila procentuální odchyt radikálů při koncentraci 1,25 mg/mL na 27 % a při koncentraci 10 mg/mL na 64 % pro *H. erinaceus* a 55 % pro *H. coralloides*. Polovina maximální účinné koncentrace (EC<sub>50</sub>) byla pro *H. erinaceus* určena na 5,82 mg/mL a pro *H. coralloides* na 7,19 mg/mL.

Rozdíl mezi antioxidační aktivitou vodních a methanolových extraktů korálovce ježatého srovnávali Alkin et al. (2021) metodou ORAC, kdy výsledky byly 120,27 μmol TE/g sušiny pro vodní extrakty a 80,17 μmol TE/g sušiny pro methanolové extrakty.

Methanolové extrakty korálovce ježatého zkoumala studie Mau et al. (2002). Celkový počet fenolů byl stanoven na 12,05 mg/g. Odchyt DPPH radikálů při koncentraci 6,4 mg/mL byl 67,8 % a odchyt hydroxylových volných radikálů při koncentraci 40 mg/mL byl 69,4 %. Chelátový efekt na železnaté ionty při koncentraci 24 mg/mL byl 46,4 %.

Ethanolové extrakty korálovce ježatého testovali Fu et al. (2002) a celkový počet fenolů stanovili na 0,46 mg/g, inhibici DPPH radikálů při koncentraci 600 μg/mL na 19,6 % a při koncentraci 800 μg/mL na 26,5 %. Podle výsledků Jiang et al. (2016) se bezvodé ethanolové extrakty *H. erinaceus* jeví jako vhodné pro výrobu funkčních potravin díky efektivní extrakci antioxidantů.

Hexanové extrakty byly účinné při *in vitro* zkoumání inhibičního efektu korálovce ježatého na LDL oxidaci (Rahman et al. 2014). Byly neúčinnější při srovnání s rozpouštědly methanol:dichloromethanem, dichloromethanem a ethyl-acetátem a vodou. Pomocí plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií byly jako biologicky aktivní látky identifikovány například ergosterol a kyselina linolová.

Ethyl-acetátové extrakty korálovce prokazovaly výraznou antioxidační aktivitu ve výzkumech Zhang et al. (2019) a Ngan et al. (2021). Ethyl-acetátový extrakt z *H. coralloides* vykazoval IC<sub>50</sub> 0,93 mg/mL proti DPPH radikálům, 1,84 mg/mL proti hydroxylovým radikálům a 0,6 mg/mL proti superoxidům (Zhang et al. 2019). U ethyl-acetátových extraktů z filtrátu kultury *H. erinaceus* byla metodou DPPH stanovena IC<sub>50</sub> na 11,83 mg/mL a u extraktů z mycelia *H. erinaceus* IC<sub>50</sub> 14,75 mg/mL (Ngan et al. 2021).

Chloroformové extrakty *H. erinaceus* vykazují schopnost vychytávat DPPH radikály při IC<sub>50</sub> 2,30 mg/mL a ABTS radikály při IC<sub>50</sub> 1,72 mg/mL (Yao et al. 2021). Methanolové extrakty s chloroformovou subfrakcí mají vyšší antioxidační aktivitu než při použití jiných rozpouštědel jako subfrakce (Li et al. 2012a).

Výše popsané studie se zabývaly především srovnáním antioxidační aktivity korálovce s jinými vybranými druhy léčivých hub (Mau et al. 2002; Fu et al. 2002; Abdullah et al. 2012; Ren et al. 2014) nebo účinností jednotlivých extraktů (Li et al. 2012a; Rahman et al. 2014; Jiang et al. 2016; Zhang et al. 2019; Yao et al. 2021). Výzkum Heleno et al. (2015) se zaměřil na porovnání antioxidační aktivity u druhů *H. erinaceus* a *H. coralloides*, kdy výsledky DPPH byly pro methanolové extrakty *H. erinaceus* EC<sub>50</sub> 24,53 mg/mL a pro *H. coralloides* EC<sub>50</sub> 22,53 mg/mL. Navíc Heleno et al. (2015) potvrdili, že přítomné antioxidanty jsou



při konzumaci biologicky dostupné. Studie Atila (2019) porovnávala druhy *H. erinaceus*, *H. americanum* a *H. coralloides*. Methanolový extrakt *H. coralloides* měl nejvyšší obsah fenolů (3,27 mg GAE/g) i největší antioxidační aktivitu (EC<sub>50</sub> metodou DPPH bylo stanoveno na 4,12 mg/mL). Antioxidační aktivita se u *H. erinaceus* výrazně lišila mezi jednotlivými specifickými kmeny.

Antioxidační aktivitu vykazují polysacharidy extrahované z korálovce. Při extrakci má vliv na obsah polysacharidů především extrakční teplota (Jiang et al. 2019). Polysacharidy HEP *in vitro* odchyťávají DPPH radikály, hydroxylové radikály, ABTS radikály a vykazují chelátový efekt na železnaté ionty (Malinowska et al. 2009; Li et al. 2012b; Zhang et al. 2012; Wang et al. 2018, 2019b; Xue et al. 2021; Tu et al. 2021). Antioxidační aktivita HEP byla prokázána také *in vivo* (Han et al. 2013; Shang et al. 2014).

Dalšími izolovanými látkami z korálovce s antioxidační aktivitou jsou oligosacharidy (Hou et al. 2015; Ren et al. 2018a; Gao et al. 2019), aromatické sloučeniny (například hericenon J, hericerin, isohericerin) a steroly (Li et al. 2017).

Navrhovaným způsobem přípravy a konzumace korálovce pro zachování antioxidačních benefitů je čajový nálev i odvar (Ghosh et al. 2021). Více o možnostech použití ve funkčních potravinách viz kapitola 3.3. Při výrobě a vývoji funkčních potravin je vhodné zkoumat co nejvíce parametrů a faktorů. Například na antioxidační aktivitu má vliv také teplota sušení plodnic korálovce, kdy největší je v čerstvých plodnicích, poté ve vzorcích sušených volně na vzduchu, následně ve vzorcích sušených při 40 °C a nejméně v plodnicích sušených při 70 °C (Gąsecka et al. 2020). Vhodnou domácí kulinářskou přípravou čerstvých plodnic korálovce pro dobré sensorické vlastnosti a zachování antioxidačních benefitů je restování (Chang et al. 2021).

### 3.2.2 Protizánětlivá aktivita

Zánět je komplexní souhrn obranných a reparativních reakcí organismu na poškození. Jedná se o přirozené procesy, které jsou obvykle součástí imunitních dějů. Příčinou zánětlivých reakcí mohou být patogenní mikroorganismy, chemické a fyzikální vlivy (teplota, UV záření) nebo ischemie (nedokrvení) tkání. Zánět může být lokální (v místě poškození organismu) nebo systémový. Mezi projevy lokálního zánětu patří bolest, otok, zčervenání, zvýšená místní teplota a poškození funkce. Projevy systémového zánětu jsou zvýšená tělesná teplota, zrychlená sedimentace erytrocytů, zvýšený počet leukocytů a zvýšená hladina C-reaktivního proteinu. V závažných případech může dojít k septickému nebo anafylaktickému šoku. Cílem zánětlivých procesů je hojení a případně také dosažení imunity. Avšak pokud zánět nesplní svůj účel, může se stát patologicky chronickým a poškozovat organismus (Bártová 2015; Hořejší 2017; Jílek 2019).

Zánětlivé reakce v organismu spouští žírné buňky a makrofágy, jež signalizují uvolňování mediátorů zánětu. Prozánětlivé mediátory jsou histamin, serotonin, prostaglandiny, leukotrieny, bradykinin, oxid dusnatý (NO) a prozánětlivé cytokiny, mezi které patří faktory nádorové nekrózy (TNF) a interleukiny (IL). Po uvolnění mediátorů dojde k vazodilataci (rozšíření cév), poté ke zvýšení propustnosti výstelky cévních stěn a následně k chemotaxi neboli přilákání bílých krvinek a fagocytů (neutrofilů a monocytů). Fagocyty pohlcují mikroorganismy či cizí částice, neutrofilů po odumření mohou tvořit hnis. Při rozsáhlejším

zánětu se cytokiny dostávají do krve a v játrech vyvolávají zvýšenou tvorbu bílkovin akutní fáze, mezi které patří například C-reaktivní protein. Po odstranění příčiny zánětu se začnou produkovat mediátory k zastavení zánětlivé reakce, které stimulují infiltraci makrofágy a monocyty. Fagocyty odstraní poškozené buňky a jejich fragmenty, dochází k potlačení zánětu, podnícení angiogeneze (tvorby nových cév) a nakonec k zahojení tkáně. V případě akutní infekce výše popsany proces proběhne během několika hodin nebo maximálně tří dnů. Při chronické infekci zánětlivá odpověď trvá měsíce i roky, což vede k poškození tkáně nebo onemocnění (Hořejší 2017; Nasef et al. 2017; Germolec et al. 2018).

Existuje souvislost mezi zánětlivými a oxidačními procesy v organismu. Prozánětlivé mediátory (hlavně cytokiny) stimulují tvorbu ROS (Lee & Yang 2012). Obzvláště chronické záněty mohou mít poté za následek oxidační poškození buněk a orgánů (Prasad et al. 2012). Na druhou stranu ROS mohou vyvolávat produkci prozánětlivých mediátorů (Mittal et al. 2014).

Chronický zánět postupně poškozuje tkáně a nahrazuje je vazivem (Germolec et al. 2018). Je navíc spojen s řadou nemocí, mezi které patří revmatoidní artritida, ateroskleróza i další kardiovaskulární onemocnění, astma, chronická obstrukční plicní nemoc, idiopatické střevní záněty, lupénka, cukrovka, neurodegenerativní onemocnění a rakovina (Laveti et al. 2013; Netea et al. 2017; Libby & Kobold 2019). Faktory, které přispívají k rozvoji těchto onemocnění, jsou nedostatek fyzické aktivity, nevyvážená strava (nedostatek vlákniny, vitaminů D a A, selenu, železa, zinku), stres, kouření a nadměrná konzumace alkoholu (Prasad et al. 2012; Nasef et al. 2017). Jako prevence může sloužit konzumace koření, oříšků, celozrnných obilovin, luštěnin, ovoce a zeleniny (Prasad et al. 2012; Kunnumakkara et al. 2018). V posledních letech roste zájem o přírodní látky s protizánětlivou aktivitou, které by mohly sloužit k prevenci a léčbě výše vyjmenovaných onemocnění (Wang et al. 2021).

### 3.2.2.1 Metody stanovení protizánětlivé aktivity

Protizánětlivá aktivita rostlinných či houbových extraktů se stanovuje metodami *in vitro* i *in vivo* (Maione et al. 2016). Ačkoliv *in vivo* metody mají relevantnější výsledky, z etických důvodů je vhodné nejprve vytipovat vhodné extrakty *in vitro* (Tatti et al. 2012). K určení protizánětlivé aktivity *in vitro* se používají testy typu *assay*. Využívá se například test inhibice proteinové denaturace, test membránové stabilizace, testy založené na inhibici enzymů cyklooxygenázy a lipooxygenázy (Sarveswaran et al. 2017). Často se také stanovuje celkový počet fenolů a flavonoidů (Gosslau et al. 2011).

Nejčastěji se používají testy založené na inhibici enzymu cyklooxygenázy (COX). COX přeměňuje kyselinu arachidonovou na prostaglandin  $H_2$ , což je prekurzor prostacyklinu a dalších zánětlivých mediátorů. COX se vyskytuje ve dvou základních izoformách, a to COX-1 a COX-2. COX-1 je přítomna ve většině buněk a tkání, především v žaludeční sliznici. COX-2 je exprimována v přítomnosti zánětlivých mediátorů. Hladina COX-2 je při zánětech zvýšená, zatímco COX-1 nikoliv. Inhibice COX, a tím pádem inhibice syntézy prostaglandinů, je mechanismus působení nesteroidních protizánětlivých léků. Tyto léky mohou být neselektivní nebo selektivní COX-2 inhibitory. Neselektivní (například ibuprofen) inhibují i COX-1, čímž dojde ke snížení produkce ochranných prostaglandinů, a proto mají nežádoucí vedlejší účinky, především poškození žaludeční sliznice a vznik žaludečních vředů. Selektivní COX-2

inhibitory jsou tzv. coxiby (Vishwakarma & Negi 2020). I ty mohou mít vedlejší účinky. Coxiby první generace (například celecoxib, valdecoxib) se používaly na léčbu osteoartritidy a revmatoidní artritidy, avšak musely být staženy z trhu, protože měly výrazně negativní vliv na kardiovaskulární soustavu (Jaismy et al. 2018). U druhé generace (etoricoxib a lumiracoxib) byly vedlejší účinky omezeny (Yuan & Hunt 2007). Jako možnost se jeví inhibitory COX-2 i 5-lipoxygenázy, které zamezují tvorbě prostaglandinů i leukotrienů (Charlier & Michaux 2003; Jaismy et al. 2018).

Na výše popsaném principu inhibice COX je založen i *in vitro* test, kdy v přítomnosti protizánětlivých látek neproběhne přeměna kyseliny arachidonové na prostaglandin H<sub>2</sub>. Známé inhibitory (například ibuprofen) se používají jako standard (Vishwakarma & Negi 2020).

### 3.2.2.2 Protizánětlivá aktivita korálovce

Protizánětlivá aktivita byla prokázána u extraktů z korálovce i u některých izolovaných látek. Při porovnání methanolových, chloroformových, hexanových a ethyl-acetátových extraktů *H. erinaceus* se z hlediska protizánětlivé aktivity jeví nejlépe chloroformové (Kim et al. 2012b; Geng et al. 2014). Chloroformové při *in vitro* testech v makrofázích RAW 264.7 ošetřených lipopolysacharidem snižují produkci NO, prostaglandinu E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), ROS i expresi iNOS a COX-2 (Kim et al. 2012b). Naopak horké vodní extrakty vykazují velmi slabou protizánětlivou aktivitu (Ellan et al. 2019).

Ethanolové extrakty korálovce ježatého signifikantně redukuje NO v mikroglích BV2 zasažených lipopolysacharidem (Kushairi et al. 2019). Ethyl-acetátové extrakty mají potenciál zabraňovat nebo zlepšovat zánět tukové tkáně spojený s obezitou, protože v buněčné kultuře adipocytů a makrofágů RAW 264.7 aktivované polysacharidem snižují hladiny TNF- $\alpha$  a IL-6 (Mori et al. 2015).

Ethanolové extrakty *in vivo* projevují potenciál pro prevenci nebo léčbu idiopatických střevních zánětů. Při orálním podání myším s akutní fází idiopatického střevního zánětu dojde k potlačení produkce prozánětlivých mediátorů TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 a regulaci produkce NO, malondialdehydu a superoxid dismutázy (Qin et al. 2016). U krysu alkoholový extrakt zvýší hladinu IL-10, sníží TNF- $\alpha$ , aktivuje bílé krvinky a pozitivně ovlivňuje střevní mikrobiom (Diling et al. 2017b).

Protizánětlivá aktivita vybraných látek izolovaných z korálovce je zobrazena v Tabulce 3. Při testování *in vitro* jsou u buněčných kultur většinou navozeny zánětlivé procesy pomocí lipopolysacharidu. Společný mechanismus působení je založen na inhibici prozánětlivých faktorů.

**Tabulka 3:** Protizánětlivá aktivita vybraných aktivních látek izolovaných z korálovce

<b>Biologicky aktivní látka</b>	<b>Testování, model</b>	<b>Mechanismus působení</b>	<b>Reference</b>
Amycenen	<i>In vivo</i> , myši	Inhibice TNF- $\alpha$ , IL-10	(Yao et al. 2015)
Beta-glukany	<i>In vitro</i> , makrofágy RAW 264.7	Inhibice NO, IL, TNF- $\alpha$ , PGE <sub>2</sub>	(Du et al. 2015)
Erinacin C	<i>In vitro</i> , mikroglie BV2	Inhibice NO, IL-6, TNF- $\alpha$ , iNOS	(Wang et al. 2019a)
Erinarol H	<i>In vitro</i> , makrofágy RAW 264.7	Inhibice TNF- $\alpha$	(Li et al. 2015a)
Erinarol J	<i>In vitro</i> , makrofágy RAW 264.7	Inhibice TNF- $\alpha$ , NO	(Li et al. 2015a)
Ethyl 8-hydroxy-4-methoxyquinolin-2-carboxylát	<i>In vitro</i> , mikroglie	Inhibice NO	(Lin et al. 2018)
Hericenon F	<i>In vitro</i> , makrofágy RAW 264.7	Inhibice NO	(Lee et al. 2016)
Hericirin	<i>In vitro</i> , makrofágy RAW 264.7	Snížení exprese iNOS a COX-2, inhibice NO, PGE <sub>2</sub> , TNF- $\alpha$ , IL-6 a IL-1 $\beta$	(Li et al. 2014b)
Polysacharid HECP	<i>In vivo</i> , myši	Snížení exprese iNOS a COX-2, inhibice IL-6, IL-1 $\beta$ a TNF- $\alpha$	(Ren et al. 2018b)
Polysacharid HEP	<i>In vivo</i> , krysy	Inhibice TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$	(Wang et al. 2018)
Polysacharid HPB-3	<i>In vivo</i> , krysy	Inhibice TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$	(Chen et al. 2020b)

Zkratky: faktor nádorové nekrózy alfa (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL), oxid dusnatý (NO), prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), syntáza oxidu dusnatého (iNOS), cyklooxygenáza 2 (COX-2).

### 3.3 Funkční potraviny

Funkční potravina je taková potravina, která má kromě své nutriční hodnoty pozitivní vliv na zdraví. Tato definice však není jednotná a termín funkční potravina není ukotven v legislativě Evropské unie (Winklerová 2009).

Výzkum funkčních potravin započal v roce 1984 v Japonsku. Díky japonské vládě vznikly rozsáhlé systematické výzkumy zaměřené na potraviny s potenciálně kladným účinkem na lidské zdraví, protože vláda chtěla snížit rychle rostoucí náklady na zdravotní péči (Arai 1996). V roce 1991 vznikla samostatná kategorie potravin pro specifické zdravotní účely (FOSHU). FOSHU jsou definovány jako potraviny, které mají specifický zdravotní efekt díky příslušným složkám, nebo potraviny, ze kterých byly odstraněny alergeny. Potraviny musí projít schvalovacím procesem, aby mohly být kategorizovány jako FOSHU (ILSI 2002). První potravina, která získala označení FOSHU, byla hypoalergenní rýže od firmy Shiseido. Tato

rýže obsahovala enzym, který rozložil protein globulin, jenž způsoboval alergii u 70 % pacientů, a zároveň zachoval 80 % bílkovin (Swinbanks & O'Brien 1993).

V Evropské unii vznikl v roce 1995 projekt *Functional Food Science in Europe* (FUFOSE) pod záštitou *International Life Science Institute* (ILSI), který po dobu tří let hodnotil funkční potraviny (ILSI 2002). V roce 1991 dosáhl FUFOSE konsenzu *Scientific Concepts of Functional Foods in Europe* (Consensus 1999). Součástí konsenzu je pracovní definice pro funkční potraviny, jejímiž hlavními body jsou:

- „Funkční potravina je svým charakterem běžnou potravinou, není to tableta, kapsle ani jiná forma doplňku stravy.
- Průkaz příznivých účinků na lidské zdraví musí být založen na vědeckém základě.
- Funkční potravina kromě své výživové hodnoty má příznivé účinky na lidské zdraví a/nebo snižuje riziko lidského onemocnění.
- Funkční potraviny se konzumují jako součást běžné stravy.“ (ILSI 2002; Winklerová 2009)

Evropskou legislativou jsou však regulovaná zdravotní tvrzení, která lze z logiky věci na obalu funkčních potravin očekávat (Winklerová 2009). Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 ze dne 20. prosince 2006 o výživových a zdravotních tvrzeních při označování potravin určuje, která zdravotní tvrzení se mohou na etiketě uvádět. Zdravotní tvrzení musí být schválena Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (Zakonyprolidi.cz 2014).

Mezi funkční potraviny nepatří doplňky stravy. Doplňky stravy jsou podle směrnice Evropského parlamentu a Rady 2002/46/ES ze dne 10. června 2002 o sbližování právních předpisů členských států týkajících se doplňků stravy definovány jako „potraviny, jejichž účelem je doplňovat běžnou stravu a které jsou koncentrovanými zdroji živin nebo jiných látek s výživovým nebo fyziologickým účinkem, samostatně nebo v kombinaci, jsou uváděny na trh ve formě dávek, a to ve formě tobolek, pastilek, tablet, pilulek a v jiných podobných formách, dále ve formě sypké, jako kapalina v ampulích, v lahvičkách s kapátkem a v jiných podobných formách kapalných nebo sypkých výrobků určených k příjmu v malých odměřených množstvích“ (Zakonyprolidi.cz 2021).

Nejznámější funkční potravinou jsou fermentované mléčné výrobky, jogurty či kefíry, které působí jako probiotikum. Dalšími příklady funkčních potravin jsou margaríny obohacené o rostlinné steroly, jež napomáhají ke snížení cholesterolu v krvi, nebo čokolády se sladidlem isomaltulosou, která má pozitivní účinek na zuby, protože ve srovnání s konvenčním cukrem nesnižuje pH zubního plaku (Winklerová 2009). Isomaltulosa má oproti sacharose také nižší glykemický index (32 oproti 68), a proto je vhodnější při prevenci diabetu, obezity a kardiovaskulárních onemocněních (Shyam et al. 2018).

Léčivé houby mají při vývoji funkčních potravin velký potenciál díky obsahu biologicky aktivních látek (Wasser 2014; Elkhateeb 2020). Při výrobě potravin lze využít mycelium, sušenou plodnici, extrakt či konkrétní chemickou sloučeninu (Üstün et al. 2018).

Vědci se zabývají například přípravou funkčních sýrů, krémových sýrů s přídavkem pečárky Bohusovy (*Agaricus bohusii*, Agaricaceae) (Reis et al. 2012), polničky topolové (*Agrocybe aegerita*, Strophariaceae) (Petrović et al. 2015), sýru typu cottage s klouzkem obecným (*Suillus luteus*, Gomphidiaceae) nebo hnojníkem inkoustovým (*Coprinopsis atramentaria*, Psathyrellaceae) (Ribeiro et al. 2015). Do jogurtů se přidává žampion mandlový

(*Agaricus blazei*, Agaricaceae), pečárka dvouvýtrusá (*Agaricus bisporus*, Agaricaceae) (Stojković et al. 2014) či hlíva ústříčná (*Pleurotus ostreatus*, Pleurotaceae) (Vital et al. 2015; Antontceva et al. 2018). Žampion mandlový (*A. blazei*) lze přidat i do samotného mléka pro lepší dostupnost živin a jako ochranu proti žluknutí (Vital et al. 2017).

Jiné studie se věnují přípravě funkčních masových výrobků, do hovězího přidávají hřib smrkový (*Boletus edulis*, Boletaceae) (Barros et al. 2011), do kuřecího sírovec žlutooranžový (*Laetiporus sulphureus*, Fomitopsidaceae) (Petrović et al. 2014) a do vepřového hřib bronzový (*Boletus aereus*, Boletaceae) (Stojković et al. 2015).

Funkční chléb lze upéct díky boltcovitce bezové (*Auricularia auricula*, Auriculariaceae) (Fan et al. 2007), žampionu mandlovému (*A. blazei*), outkovce kafrové (*Antrodia camphorata*, Polyporales), korálovci ježatém (*H. erinaceus*), ohňovci brázditému (*Phellinus linteus*, Hymenochaetaceae) (Ulziijargal et al. 2013) nebo pečárce dvouvýtrusé (*A. bisporus*) (Ahmad & Singh 2016).

Funkční svačiny se mohou připravit z pečárky dvouvýtrusé (*A. bisporus*) (Singla et al. 2009) či polničky topolové (*A. aegerita*) (Brennan et al. 2012).

Houby se dají také využít k fermentaci sójových bobů, čímž se zvýší obsah fenolů i antioxidační aktivita oproti nefermentovaným bobům (Lin et al. 2006; Suruga et al. 2020). Lin et al. (2006) fermentovali sóju plísněmi (*Aspergillus sojae*, *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus awamori*, *Actinomucor taiwanensis* a *Rhizopus* sp.), přičemž největší antioxidační aktivitu vykazovala sója fermentovaná *A. awamori*. Suruga et al. (2020) fermentovali sójové boby myceliem lesklokorky lesklé (*Ganoderma lucidum*, Ganodermataceae), korálovce ježatého (*H. erinaceus*) a korálovce bukového (*H. coralloides*). Sója fermentovaná korálovcem ježatým a korálovcem bukovým obsahovala více isoflavonů ve formě aglykonů (daidzein, glycitein a genistein), zatímco sója fermentovaná lesklokorkou lesklou prokazovala vyšší inhibiční aktivitu proti kyslí  $\alpha$ -glukosidáze.

## 4 Materiál a metody

Účelem práce bylo vtipovat vhodný specifický kmen korálovce pro následný výzkum a vývoj funkčních potravin. Proto byly zvoleny *in vitro* metody založené na inhibici či vychytávání volných radikálů s různým stupněm biologické relevance (DPPH, ORAC) a test založený na inhibici enzymu COX-2 pro stanovení protizánětlivé aktivity.

V potravinářství se nejčastěji využívají druhy *Hericium erinaceus*, *H. flagellum* a *H. coralloides* (Jumbam et al. 2019). Doplnky stravy jsou vyráběny především z *H. erinaceus*, který je i nejčastějším korálovcem zkoumaným vědeckými studiemi. Avšak na doplňcích stravy ani na potravinách nebývá uveden konkrétní kmen, což je zásadní informace, protože jednotlivé kmeny mohou mít odlišné vlastnosti. Tato práce se zaměřila na porovnání biologické aktivity u méně známých kmenů *H. erinaceus*.

### 4.1 Houbový materiál

K biologickým testům bylo použito šest specifických kmenů druhu *Hericium erinaceus*: KZ09, KZ91, KZ92, KZ111, KZ116 a KZ120. Pěstování probíhalo na substrátech, které byly připraveny z pilin listnatého dřeva obohacených 20 % pšeničných otrub a doplněných vodou na 65–68 %. Substráty byly naplněny do polypropylenových sáčků po 2500 g, a poté byly tepelně ošetřeny při 90 °C po dobu 24 hodin. Substráty byly naočkovány 5 % zrnité sadby. Prorůstání mycelia substrátem trvalo 21–27 dnů. Kultury korálovce ježatého tvořily plodnice při teplotě 17–20 °C a relativní vlhkosti 85–90 %.

### 4.2 Chemikálie, reagenty a standardy

Rozpouštědla o analytické kvalitě (methanol, ethanol, chloroform, dimethylsulfoxid) byly zakoupeny od VWR (Stříbrná Skalice, Česká republika). DPPH, Trolox, AAPH, fluorescein, hematin, L-epinefrin, Na<sub>2</sub>EDTA dihydrát, arachidonová kyselina, formiát, ibuprofen a enzym COX-2 byly zakoupeny od Sigma-Aldrich (Praha, Česká republika). Anorganické soli, kyseliny a další chemikálie pro přípravu pufrů (K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Tris, HCl) byly zakoupeny od PENTA-chemicals (Praha, Česká republika). Kit na protizánětlivou aktivitu (Prostaglandin E<sub>2</sub> Enzyme Immunoassay Kit) byl zakoupen od Assay Designs (Praha, Česká republika).

### 4.3 Příprava vzorků a extrakce

Plodnice byly lyofilizovány, a poté laboratorním mlýnkem homogenizovány do podoby jemného prášku. Extrakce vzorků byla provedena dvěma způsoby: pomocí methanolu (80% MeOH) a chloroformu (TCM). Oběma způsoby byl každý specifický kmen připraven ve třech variantách s pracovním označením A, B, C. Pro methanolovou extrakci bylo odváženo 200 mg vzorku, k čemuž bylo přidáno 2,4 mL 80% methanolu. Pro extrakci chloroformem bylo odváženo 300 mg vzorku a přidáno 2 mL chloroformu a 0,4 mL destilované vody. Vzniklé roztoky byly třepány na třepačce po dobu 30 minut, potom sonikovány 5 minut a následně 10 minut centrifugovány při 10 000 otáčkách za minutu. Poté byly odebrány supernatanty a 2 mL byly reextrahovány výše popsaným způsobem. Následně byly supernatanty smíchány

a odpařeny na odparce. Dále byly vzorky rozpuštěny v dimethylsulfoxidu (DMSO) na koncentraci 1,024 mg/mL.

#### **4.4 Stanovení antioxidační aktivity *in vitro***

Antioxidační aktivita byla stanovena u 80% methanolvých extraktů pomocí *in vitro* metod DPPH a ORAC. Principy těchto metod jsou popsány v kapitole 3.2.1.1. Chloroformové extrakty nebyly testovány, protože v předchozí studii Kubátová (2020) měly velice nízkou antioxidační aktivitu.

##### **4.4.1 DPPH**

Schopnost vzorků inhibovat DPPH radikál byla stanovena na základě dříve popsané metody dle Sharma & Bhat (2009), která byla upravena pro použití v 96jamkové mikrotitrační destičce. U vzorků i standardu byla vytvořena dvojnásobná ředící řada v methanolu (100  $\mu$ L; vzorky = 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8  $\mu$ g/mL; Trolox = 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1  $\mu$ g/mL.). Methanol sloužil jako negativní kontrola. Následně bylo do všech jamek přidáno 100  $\mu$ L 0,25 mM DPPH. Destičky byly inkubovány ve tmě po dobu 30 minut, a poté byla měřena absorbance při 517 nm (BioTek, Winooski, USA). Výsledky byly vyjádřeny v jednotkách Trolox ekvivalentů ( $\mu$ g TE/mg extraktu).

##### **4.4.2 ORAC**

Upravená metoda ORAC dle Ou et al. (2001) byla využita pro odhalení schopnosti vzorků zpomalovat rozklad fluoresceinu indukovaného AAPH. Všechny reagenty byly připraveny ve fosfátovém pufru o koncentraci 75 mM a pH 7, který byl nachystán den před analýzou a přes noc uskladněn v lednici při 4 °C. Do všech obvodových jamek 96jamkové mikrotitrační destičky bylo napipetováno 200  $\mu$ L destilované vody pro zajištění lepší termální stability měřených jamek. Následně bylo 25  $\mu$ L vzorku (výsledná koncentrace byla 128  $\mu$ g/mL) zředěno 150  $\mu$ L 48 nM fluoresceinu. Takto připravená destička byla inkubována po dobu 10 minut při 37 °C. Po inkubaci bylo přidáno 25  $\mu$ L 153 mM AAPH (Silva et al. 2007). Trolox v koncentrační řadě 64, 32, 16, 8 a 4  $\mu$ g/mL byl použit jako standard a fosfátový pufr jako kontrola. Fluorescence byla měřena ve čtečce každou minutu po dobu dvou hodin. Čtení fluorescence probíhalo při nastavení emise při 494 nm a absorbance při 519 nm. Výsledky byly vyjádřeny jako ekvivalenty Troloxu ( $\mu$ g TE/mg extraktu).

#### **4.5 Stanovení protizánětlivé aktivity *in vitro***

Protizánětlivá aktivita byla testovaná u methanolvých i chloroformových extraktů pomocí komerčního kitu (Prostaglandin E<sub>2</sub> Enzyme Immunoassay Kit, Assay Designs). Test byl založen na inhibici COX-2, viz kapitola 3.2.2.1.

Do všech jamek v 96jamkové mikrotitrační destičce bylo napipetováno 180  $\mu$ L směsi kofaktorů, která se skládala z 100 mM Tris pufru (pH 8), 5  $\mu$ M hematinu, 18 mM L-epinefrinu a 50  $\mu$ M roztoku Na<sub>2</sub>EDTA. Do předem určených jamek bylo přidáno 10  $\mu$ L testovaných extraktů o koncentraci 200  $\mu$ g/mL. Jako standard byl použit ibuprofen a DMSO jako kontrola. Obsah jamek byl promíchán, a poté bylo do všech jamek bylo přidáno 5  $\mu$ L COX-2, což



odpovídalo 0,5 mezinárodním jednotkám COX-2 na každou reakci. Destička byla inkubována při pokojové teplotě pět minut. Po stanovené době bylo přidáno 5  $\mu\text{L}$  10  $\mu\text{M}$  kyseliny arachidonové pro zahájení reakce. Následně probíhala inkubace při 37  $^{\circ}\text{C}$  po dobu 20 minut. Reakce byla zastavena přidáním 10  $\mu\text{L}$  10% kyseliny mravenčí. Poté byly vzorky naředěny v druhé destičce v poměru 10 : 150  $\mu\text{L}$  s Assay Bufferem. V poslední řadě byly naředěny PGE<sub>2</sub> standardy na koncentrace 2500, 1250, 625, 312,5, 156,25, 78,125 a 39,0625 pg/mL v Assay Bufferu. Do ELISA jamek bylo přeneseno 100  $\mu\text{L}$  přichystaných vzorků i standardů ve stejném pořadí jako na předchozích destičkách. Dále bylo přidáno 50  $\mu\text{L}$  modrého konjugátu a 50  $\mu\text{L}$  žluté protilátky. Do poslední jamky (B<sub>0</sub>) bylo napipetováno 100  $\mu\text{L}$  Assay Bufferu. Destička byla inkubována po dobu dvou hodin při pokojové teplotě. Nato byl obsah jamek vyprázdněn a třikrát vmyt 400  $\mu\text{L}$  Wash Bufferem. Posléze byl zbytek Wash Bufferu vyklepán na papírový kapesník a dosušen ovíváním. Do vysušených jamek bylo přidáno 200  $\mu\text{L}$  pNpp substrátu. Po 45minutové inkubaci při pokojové teplotě bylo do všech jamek napipetováno 50  $\mu\text{L}$  Stop Solutionu za účelem zastavení reakce. Destička byla měřena při 405 nm s korekcí mezi 570 a 590 nm. Výsledky byly vyjádřeny jako průměrná inhibice v procentech.

#### **4.6 Statistická analýza**

Všechny provedené analýzy byly měřeny ve třech nezávislých testech vždy ve dvou opakováních. Výsledky byly vyjádřeny jako průměr ze všech měření spolu s korespondujícími směrodatnými odchylkami (průměr  $\pm$  SD).

## 5 Výsledky

Tato studie se zabývala stanovením antioxidační a protizánětlivé aktivity specifických kmenů *Hericium erinaceus*. Nejsilnější antioxidační aktivitu vykázal vzorek KZ91, oproti tomu nejslibnější protizánětlivou aktivitu vykázal vzorek KZ09. Specifické kmeny KZ91 a KZ1116 sice neprokázaly nejsilnější účinek ve všech použitých esejích, ale prokázaly kombinatorní antioxidační a protizánětlivou aktivitu.

### 5.1 Výsledky stanovení antioxidační aktivity

Methanolové extrakty korálovce o koncentraci 512  $\mu\text{g/mL}$  byly testovány metodou DPPH, přičemž výsledky neprokázaly antioxidační aktivitu. Tytéž extrakty o koncentraci 128  $\mu\text{g/mL}$  byly testovány metodou ORAC, jejíž výsledky jsou zaznamenány v Tabulce 4. Nejvyšší antioxidační účinek vykazovaly vzorky KZ91 a KZ116 s hodnotami  $67,18 \pm 3,75$  a  $65,92 \pm 5,51$   $\mu\text{g TE/mg}$  extraktu. Naopak nejnižší antioxidační účinek byl naměřen u vzorků KZ120 a KZ09 s hodnotami  $21,65 \pm 2,85$  a  $26,42 \pm 2,79$   $\mu\text{g TE/mg}$  extraktu.

**Tabulka 4:** Výsledky ORAC

Vzorek	Průměr $\pm$ směrodatná odchylka ( $\mu\text{g TE/mg}$ extraktu)
KZ09	$26,42 \pm 2,79$
KZ91	$67,18 \pm 3,75$
KZ92	$40,33 \pm 1,74$
KZ111	$32,78 \pm 4,23$
KZ116	$65,92 \pm 5,51$
KZ120	$21,65 \pm 2,85$

### 5.2 Výsledky stanovení protizánětlivé aktivity

Protizánětlivá aktivita byla testována u methanolových (80% MeOH) i chloroformových (TCM) extraktů korálovce o koncentraci 10  $\mu\text{g/mL}$ , výsledky jsou zobrazeny v Tabulce 5. Z uvedených dat vyplývá, že lepší protizánětlivou aktivitu vykazují nepolární chloroformové extrakty. Nejvyšší protizánětlivý potenciál byl naměřen u vzorku KZ09 s průměrnou inhibicí  $81,09 \pm 2,43$  % (chloroformový extrakt). Slibné výsledky vykazovaly také vzorky KZ92, KZ91 a KZ116 s průměrnými inhibicemi  $72,78 \pm 5,26$ ,  $72,31 \pm 2,55$  a  $70,57 \pm 3,00$  % (chloroformové extrakty). Z methanolových extraktů byl nejučinnější KZ92 s průměrnou inhibicí  $60,62 \pm 4,47$  % a nejméně účinný KZ09 s inhibicí  $32,69 \pm 7,05$  %.

**Tabulka 5:** Výsledky inhibice enzymu COX-2

<b>Vzorek</b>	<b>Extrakt</b>	<b>Průměrná inhibice ± směrodatná odchylka (%)</b>
KZ09	TCM	81,09 ± 2,43
	80% MeOH	32,69 ± 7,05
KZ91	TCM	72,31 ± 2,55
	80% MeOH	42,10 ± 14,99
KZ92	TCM	72,78 ± 5,26
	80% MeOH	60,62 ± 4,47
KZ111	TCM	53,61 ± 3,04
	80% MeOH	50,20 ± 10,33
KZ116	TCM	70,57 ± 3,00
	80% MeOH	53,71 ± 7,32
KZ120	TCM	63,97 ± 13,02
	80% MeOH	54,20 ± 5,71
Ibuprofen	-	74,49 ± 2,13

## 6 Diskuze

U vybraných specifických kmenů korálovce ježatého byla stanovena antioxidační a protizánětlivá aktivita *in vitro*. Inovativnost této práce spočívá v určení antioxidační schopnosti korálovce ježatého pomocí metody ORAC. Existuje pouze jeden předchozí záznam o ORAC aktivitě *H. erinaceus* (Alkin et al. 2021). Zmíněná studie testovala methanолоvé extrakty z plodnic korálovce ježatého s výsledkem 80,17  $\mu\text{mol TE/g}$  sušiny. V naší práci byly testovány methanолоvé extrakty z lyofilizovaných plodnic s výslednými hodnotami v rozmezí 67,18–21,65  $\mu\text{g TE/mg}$  extraktu, což je srovnatelné se jmenovanou studií. Naše výsledky se taktéž shodují se závěrem studie Atila (2019), že antioxidační aktivita se u specifických kmenů korálovce ježatého liší.

Metodou DPPH nebyla antioxidační aktivita methanолоvých extraktů o koncentraci 512  $\mu\text{g/mL}$  v této práci potvrzena. Pro srovnání, studie Mau et al. (2002) zkoumala methanолоvé extrakty o koncentraci 6,4  $\text{mg/mL}$  a naměřená inhibice DPPH radikálů byla 67,8 %. Podobná inhibice radikálů, konkrétně 64 %, byla zjištěna u vodních extraktů o koncentraci 10  $\text{mg/mL}$  (Ren et al. 2014). Zvolené koncentrace byly velmi vysoké, standardní testovaná koncentrace pro antioxidanty ve farmakologii je 10  $\mu\text{g/mL}$ . Proto, aby se v lidském organismu mohl projevit antioxidační efekt látek, které jsou účinné při tak vysokých koncentracích, by musel jedinec zkonzumovat velké množství houbového materiálu. Tomu odpovídají i výsledky studií vyjádřené jako  $\text{IC}_{50}$ , které se u korálovce ježatého pohybují mezi 2,30  $\text{mg/mL}$  (chloroformový extrakt) (Yao et al. 2021) a 25,47  $\text{mg/mL}$  (extrakt v horké vodě; tedy při zhruba 1000 $\times$  vyšší koncentraci) (Abdullah et al. 2012), přičemž  $\text{IC}_{50}$  Troloxu (analog vitamínu E, antioxidant) se pohybuje v desítkách  $\mu\text{g/mL}$ . Ve studii Fu et al. (2002) pracovali s ethanolovými extrakty a podobnými koncentracemi jako v této diplomové práci, zaznamenaná inhibice DPPH radikálů při 400  $\mu\text{g/mL}$  byla 13,5 %, při 600  $\mu\text{g/mL}$  19,6 % a při 800  $\mu\text{g/mL}$  26,5 %. Jejich výsledky poukazují na poměrně slabou antioxidační aktivitu při nižších koncentracích, podobně jak vyplývá z našich získaných dat.

Na výsledky stanovení antioxidační aktivity měla vliv použitá metoda. Rozdíl efektivit metod DPPH a ORAC je často diskutovaný. Schaich et al. (2015) popisují metodu DPPH jako nedostatečnou z hlediska popisu komplexnosti chemických reakcí, které metoda zkoumá. Antioxidační reakce jsou velmi složité a nelze je vyjádřit pouhým číslem z různých důvodů. Jedním z nich je absence popisu reakční křivky, což může ve výsledku vést k chybnému hodnocení antioxidační aktivity. Další problém se týká chemické struktury zkoumaných molekul. Velké molekuly se složitou strukturou při nízkých koncentracích si navzájem brání v reakci s DPPH, a naopak při vysokých koncentracích blokují reakci. Metoda ORAC má oproti DPPH výhody vycházející zejména z principu jejího fungování, viz kapitola 3.2.1.1. Samozřejmě má také řadu nevýhod a limitací, avšak dle některých autorů může přinášet relevantnější výsledky.

Kromě použitých metod měla na výsledky samozřejmě také zásadní vliv vlastní antioxidační aktivita extraktů. Ta je obecně závislá na počátečním obsahu sloučenin s antioxidačním účinkem v houbovém materiálu (kdy existuje rozdíl mezi plodnicí a myceliem) a postupu extrakce (způsob sušení, metoda extrakce, použité rozpouštědlo). V této práci byly použity methanолоvé extrakty z lyofilizovaných plodnic šesti specifických kmenů korálovce ježatého. Avšak u jiných studií představených v literární rešerši se dané kategorie většinou liší.

Možnými sloučeninami zodpovědnými za pozorovanou antioxidační aktivitu mohly být polysacharidy HEP (Wang et al. 2019b), hericenony, steroly (Li et al. 2017) a ergothionein (Kalaras et al. 2017). Vzorky KZ91 a KZ166 měly pravděpodobně nejvyšší obsah antioxidantů, protože ostatní výše vyjmenované faktory (viz příprava houbového materiálu a extrakce) byly u zbylých vzorků stejné.

Výsledky stanovení protizánětlivé aktivity této diplomové práce se shodují s předchozími studii (Kim et al. 2012b; Geng et al. 2014). Methanolové i chloroformové extrakty inhibovaly enzym COX-2 při koncentraci 10  $\mu\text{g/mL}$ , avšak výrazně účinnější byly chloroformové extrakty. Biologicky aktivní látky, které se mohly podílet na námi pozorované protizánětlivé aktivitě, byly polysacharidy (beta-glukany, HECF, HEP, HPB-3) (Wang et al. 2018), hericenony (Lee et al. 2016), hericirin (Li et al. 2014b), erinaroly H a J (Li et al. 2015a). Vzorek KZ09 vykazoval největší protizánětlivou aktivitu ve formě chloroformového extraktu, ale naopak nejmenší z methanolových extraktů. Proto sloučeniny zodpovědné za inhibici COX-2 ve vzorku KZ09 mohly být především nepolárního charakteru a rozpustné v nepolárním rozpouštědle. Vzorky KZ91, KZ92, a KZ166 prokázaly také slibnou protizánětlivou aktivitu, nejspíš díky vyššímu obsahu předpokládaných biologicky aktivních látek než u vzorků KZ111 a KZ120.

Účelem práce bylo nejen stanovit antioxidační a protizánětlivou aktivitu u vybraných specifických kmenů korálovce ježatého, ale také vybrat vzorek s nejlepšími výsledky. Největší antioxidační potenciál vykazovaly vzorky KZ91 a KZ116, které měly i poměrně vysokou protizánětlivou aktivitu. Avšak největší protizánětlivý účinek byl změřen u kmenu KZ09. Vybraný vzorek by měl mít navíc potenciál pro vývoj funkčních potravin, které by mohly sloužit k prevenci či léčbě nemocí způsobených oxidačním stresem, se speciálním ohledem na zánětlivá onemocnění. Vzhledem k tomu, že vzorek KZ09 měl druhou nejslabší antioxidační aktivitu, nebyl by vhodný. Z kmenů KZ91 a KZ116 měl o něco lepší výsledky KZ91, tudíž byl zvolen jako nejslibnější vzorek.

Zajímavé je porovnání s druhem *Pleurotus flabellatus*, který vykazoval největší antioxidační a protizánětlivou aktivitu vůči jiným druhům a specifickým kmenům *Pleurotus* v práci Kubátová (2020), a byl tedy také navržen k vývoji funkčních potravin. Kmeny *H. erinaceus* KZ91 i KZ92 měly o trochu vyšší antioxidační aktivitu metodou ORAC než *P. flabellatus* (63,89  $\mu\text{g TE/mg}$  extraktu). Výsledky ostatních vzorků byly velmi podobné. Větší inhibici enzymu COX-2 prokázaly chloroformové extrakty *P. flabellatus*, *P. ostreatus* 5175 a *P. ostreatus* X (82–86 %) oproti *H. erinaceus* KZ09. Podle *in vitro* výsledků měl druh *P. flabellatus* ve srovnání s *H. erinaceus* KZ91 větší protizánětlivou, ale menší antioxidační aktivitu.

Houbový materiál se do funkčních potravin může přidávat v různých formách: obohacení práškem z plodnice, fermentací myceliem, dodáním extraktů nebo samostatných izolovaných biologicky aktivních látek. Mycelium korálovce ježatého bylo již úspěšně použito k výrobě funkčního chleba (Ulziijargal et al. 2013) nebo fermentovaných sójových bobů, které dokonce vykazovaly antioxidační aktivitu (Suruga et al. 2020). Aktivita mycelia *H. erinaceus* KZ09 nebyla v této práci zkoumána, takže pro účel fermentace by musela být potvrzena dalšími studii. Prášek z usušené plodnice by však mohl být použit pro obohacení mouky a následnému upečení pečiva po vzoru Ulziijargal et al. (2013) nebo dodán do krémového sýru podle Petrović et al. (2015). Z výsledků Wong et al. (2009) vyplývá, že pro nejlepší

antioxidační vlastnosti by se plodnice měla usušit teplem a ne lyofilizací. Do výrobků by se daly použít také extrakty, avšak v tom případě by musela být upravena receptura. Z extraktů by byly vhodnější samostatné vodní nebo alkoholové, protože smíšené tinktury vykazují slabší antioxidační aktivitu (Sharpe et al. 2021; Alkin et al. 2021). Další potenciálně zajímavou možností je využití primordia (zárodku plodnice), které má podle Roda et al. (2022) vyšší obsah ergothioneinu než plodnice, a to také ve formě prášku. Funkční potraviny z *H. erinaceus* KZ09 by mohly sloužit jako prevence nebo podpůrná léčba neurodegenerativních onemocnění (Alzheimerova a Parkinsonova choroba), idiopatických střevních zánětů (Crohnova choroba a ulcerózní kolitida), cukrovky a některých typů rakoviny.

Výzkum funkčních potravin by se měl zaměřit na testování biologické aktivity hotových výrobků, zda obohacené potraviny opravdu vykazují stejnou aktivitu jako houbový materiál *in vitro*. Testování by mělo probíhat také na buněčných liniích a v klinických studiích. Dále by předmětem budoucího výzkumu mělo být klinické testování nejslibnějších biologicky aktivních látek izolovaných z korálovce nebo houbového materiálu obohaceného těmito sloučeninami.

## 7 Závěr

Cílem diplomové práce bylo stanovení antioxidační a protizánětlivé aktivity *in vitro* u specifických kmenů korálovce ježatého a vybrat kmen s nejslibnějšími výsledky. Nejlepší antioxidační potenciál projevovaly kmeny *Hericiium erinaceus* KZ91 a KZ116 metodou ORAC. Nejvyšší průměrné inhibice enzymu COX-2 byly pozorovány u chloroformových extraktů kmenů *H. erinaceus* KZ09, KZ91, KZ92 a KZ116. Na základě konkrétních hodnot byl jako nejvhodnější kmen pro následný vývoj funkčních potravin zvolen *H. erinaceus* KZ91. Zajímavým výsledkem byl také kombinatorní antioxidační a protizánětlivý účinek vzorků KZ91 a KZ116. Stanovená hypotéza, že systematické testování houbového materiálu může vést k objevu extraktů s výraznou antioxidační a protizánětlivou aktivitou využitelných při vývoji funkčních potravin, byla tedy potvrzena.

Kromě porovnání vybraných biologických aktivit *in vitro* u méně známých specifických kmenů korálovce ježatého přinesla tato práce jako jedna z mála výsledky analýzy ORAC u daného druhu. Avšak pro potvrzení antioxidační a protizánětlivé schopnosti vybraného *H. erinaceus* KZ91 (nebo případných funkčních potravin z něj vyrobených) jsou potřeba navazující chemické analýzy, *in vivo* testování a klinické studie.

## 8 Literatura

- Abdullah N, Ismail SM, Aminudin N, Shuib AS, Lau BF. 2012. Evaluation of selected culinary-medicinal mushrooms for antioxidant and ACE inhibitory activities. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* **2012**:1–12.
- Ahmad K, Singh N. 2016. Evaluation of nutritional quality of developed functional bread fortified with Mushroom and dates. *The Clarion - International Multidisciplinary Journal* **5**:23–28.
- Alam MN, Bristi NJ, Rafiquzzaman M. 2013. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal* **21**:143–152.
- Ali SS, Ahsan H, Zia MK, Siddiqui T, Khan FH. 2020. Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players. *Journal of Food Biochemistry* **44**:1–13.
- Alkin M, Söğüt E, Seydim AC. 2021. Determination of bioactive properties of different edible mushrooms from Turkey. *Journal of Food Measurement and Characterization* **15**:3608–3617.
- Allen SJ, Dawbarn D. 2006. Clinical relevance of the neurotrophins and their receptors. *Clinical Science* **110**:175–191.
- Alswailmi FK, Shah SIA, Nawaz H, Al-Mazaideh GM. 2021. Molecular Mechanisms of Vitamin D-Mediated Immunomodulation. *Galen Medical Journal* **10**:e2097.
- Antonín V, Bieberová Z, Bielich A. 1995. Chráněné houby ČR: zvláště chráněné druhy hub podle vyhlášky č. 395/92 Sb. Ministerstvo životního prostředí ČR, Praha.
- Antontceva E, Sorokin S, Shamtsyan M, Krasnikova L. 2018. Influence of *Pleurotus ostreatus* preparations on fermentation products of lactic acid cultures. *Journal of Hygienic Engineering and Design* **22**:47–52.
- Arai S. 1996. Studies on functional foods in Japan-state of the art. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **60**:9–15.
- Arnone A, Cardillo R, Nasini G, De Pava OV. 1994. Secondary mold metabolites: Part 46. Hericenones A-C and erinapyrone c, new metabolites produced by the fungus *Hericium erinaceus*. *Journal of Natural Products* **57**:602–606.
- Ashour A, Amen Y, Allam AE, Kudo T, Nagata M, Ohnuki K, Shimizu K. 2019. New isoindolinones from the fruiting bodies of the fungus *Hericium erinaceus*. *Phytochemistry Letters* **32**:10–14.
- Atila F. 2019. Comparative evaluation of the antioxidant potential of *Hericium erinaceus*, *Hericium americanum* and *Hericium coralloides*. *Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus* **18**:97–106.
- Atta EM, Mohamed NH, Abdelgawad AAM. 2017. Antioxidants: An Overview on the Natural and Synthetic types. *European Chemical Bulletin* **6**:365–375.
- Avtonomova A, Bakanov A, Shuktueva M, Vinokurov V, Popova O, Usov A, Krasnopolskaya L. 2012. Submerged cultivation and chemical composition of *Hericium erinaceus* mycelium. *Antibiotiki i Khimioterapiya* **57**:7–11.
- Barros L, Barreira JCM, Grangeia C, Batista C, Cadavez VAP, Ferreira ICFR. 2011. Beef burger patties incorporated with *Boletus edulis* extracts: Lipid peroxidation inhibition effects. *European Journal of Lipid Science and Technology* **113**:737–743.



- Bártová J. 2015. Přehled patologie. Karolinum, Praha.
- Brennan MA, Derbyshire E, Tiwari BK, Brennan CS. 2012. Enrichment of extruded snack products with coproducts from chestnut mushroom (*Agrocybe aegerita*) production: Interactions between dietary fiber, physicochemical characteristics, and glycemic load. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **60**:4396–4401.
- Brewer MS. 2011. Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* **10**:221–247.
- Chang KA, Kow HN, Tan TE, Tan KL, Chew LY, Neo YP, Sabaratnam V. 2021. Effect of domestic cooking methods on total phenolic content, antioxidant activity and sensory characteristics of *Hericium erinaceus*. *International Journal of Food Science and Technology* **56**:5639–5646.
- Chang ST, Wasser SP. 2012. The role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health. *International Journal of Medicinal Mushrooms* **14**:95–134.
- Charlier C, Michaux C. 2003. Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-steroidal anti-inflammatory drugs. *European Journal of Medicinal Chemistry* **38**:645–659.
- Cheah IK, Halliwell B. 2021. Ergothioneine, recent developments. *Redox Biology* **42**:101868.
- Chen B, Han J, Bao L, Wang W, Ma K, Liu H. 2020a. Identification and  $\alpha$ -Glucosidase Inhibitory Activity of Meroterpenoids from *Hericium erinaceus*. *Planta Medica* **86**:571–578.
- Chen CC, Tzeng TT, Chen CC, Ni CL, Lee LY, Chen WP, Shiao YJ, Shen CC. 2016. Erinacine S, a Rare Sesterterpene from the Mycelia of *Hericium erinaceus*. *Journal of Natural Products* **79**:438–441.
- Chen W, Wu D, Jin Y, Li Q, Liu Y, Qiao X, Zhang J, Dong G, Li Z, Li T. 2020b. Pre-protective effect of polysaccharides purified from *Hericium erinaceus* against ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *International Journal of Biological Macromolecules* **159**:948–956.
- Chiang HC, Chang HH, Huang PY, Hsu M. 2014. On the *qi* deficiency in traditional Chinese medicine. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology* **53**:317–323.
- Chong PS, Fung ML, Wong KH, Lim LW. 2020. Therapeutic potential of *Hericium erinaceus* for depressive disorder. *International Journal of Molecular Sciences* **21**:163.
- Cohen N, Cohen J, Asatiani MD, Varshney VK, Yu HT, Yang YC, Li YH, Mau JL, Wasser SP. 2014. Chemical composition and nutritional and medicinal value of fruit bodies and submerged cultured mycelia of culinary-medicinal higher basidiomycetes mushrooms. *International Journal of Medicinal Mushrooms* **16**:273–291.
- Consensus. 1999. Scientific Concepts of Functional Foods in Europe Consensus Document. *British Journal of Nutrition* **81**:S1–S27.
- Corrêa RCG, Brugnari T, Bracht A, Peralta RM, Ferreira ICFR. 2016. Biotechnological, nutritional and therapeutic uses of *Pleurotus* spp. (Oyster mushroom) related with its chemical composition: A review on the past decade findings. *Trends in Food Science and Technology* **50**:103–117.

- Cui FJ, Li YH, Zan XY, Yang Y, Sun WJ, Qian JY, Zhou Q, Yu SL. 2014. Purification and partial characterization of a novel hemagglutinating glycoprotein from the cultured mycelia of *Hericiium erinaceus*. *Process Biochemistry* **49**:1362–1369.
- Dai X, Zhan Y, Zhang J, Zhang P, Han Z, Ma Q, Kong X, Liu J, Ma Y. 2015. Regulatory effect of salicylic acid and methyl jasmonate supplementation on ergosterol production in *Hericiium erinaceus* mycelia. *Journal of Forestry Research* **26**:71–77.
- Das K, Stalpers J, Eberhardt U. 2011. A new species of *Hericiium* from Sikkim Himalaya (India). *Cryptogamie, Mycologie* **32**:285–293.
- Das K, Stalpers JA, Stielow JB. 2013. Two new species of hydroid-fungi from India. *IMA Fungus* **4**:359–369.
- Devi R, Kaur T, Guleria G, Rana KL, Kour D, Yadav N, Yadav AN, Saxena AK. 2020. Fungal secondary metabolites and their biotechnological applications for human health. Pages 147–161 in A. A. Rastegari, A. N. Yadav, and N. Yadav, editors. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering*. Elsevier.
- Diling C, Tianqiao Y, Jian Y, Chaoqun Z, Ou S, Yizhen X. 2017a. Docking studies and biological evaluation of a potential  $\beta$ -secretase inhibitor of 3-hydroxyhericenone F from *Hericiium erinaceus*. *Frontiers in Pharmacology* **8**:219.
- Diling C, Xin Y, Chaoqun Z, Jian Y, Xiaocui T, Jun C, Ou S, Yizhen X. 2017b. Extracts from *Hericiium erinaceus* relieve inflammatory bowel disease by regulating immunity and gut microbiota. *Oncotarget* **8**:85838.
- Du B, Lin C, Bian Z, Xu B. 2015. An insight into anti-inflammatory effects of fungal beta-glucans. *Trends in Food Science & Technology* **41**:49–59.
- Durrant LR, Bucca G, Hesketh A, Möller-Levet C, Tripkovic L, Wu H, Hart KH, Mathers JC, Elliott RM, Lanham-New SA. 2022. Vitamins D2 and D3 Have Overlapping But Different Effects on the Human Immune System Revealed Through Analysis of the Blood Transcriptome. *Frontiers in Immunology* **13**:767.
- Eiserich JP, Wong JW, Shibamoto T. 1995. Antioxidative Activities of Furan- and Thiophenethiols Measured in Lipid Peroxidation Systems and by Tyrosyl Radical Scavenging Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **43**:647–650.
- Elkhateeb WA. 2020. What Medicinal Mushroom Can Do? *Journal of Chemical Research* **5**:106–118.
- Ellan, Thayan R, Phan CW, Sabaratnam V. 2019. Anti-inflammatory effect of mushrooms in dengue-infected human monocytes. *Tropical Biomedicine* **36**:1087–1098.
- Fan L, Zhang S, Yu L, Ma L. 2007. Evaluation of antioxidant property and quality of breads containing *Auricularia auricula* polysaccharide flour. *Food Chemistry* **101**:1158–1163.
- Friedman M. 2015. Chemistry, Nutrition, and Health-Promoting Properties of *Hericiium erinaceus* (Lion's Mane) Mushroom Fruiting Bodies and Mycelia and Their Bioactive Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **63**:7108–7123.
- Fu HY, Shieh DE, Ho CT. 2002. Antioxidant and free radical scavenging activities of edible mushrooms. *Journal of Food Lipids* **9**:35–43.
- Gao Y, Zheng W, Wang M, Xiao X, Gao M, Gao Q, Xu D. 2019. Molecular properties, structure, and antioxidant activities of the oligosaccharide Hep-2 isolated from cultured mycelium of *Hericiium erinaceus*. *Journal of Food Biochemistry* **43**:e12985.

- Gąsecka M, Siwulski M, Magdziak Z, Budzyńska S, Stuper-Szablewska K, Niedzielski P, Mleczek M. 2020. The effect of drying temperature on bioactive compounds and antioxidant activity of *Leccinum scabrum* (Bull.) Gray and *Hericium erinaceus* (Bull.) Pers. *Journal of Food Science and Technology* **57**:513–525.
- Geng Y, Zhu S, Lu ZM, Xu HY, Shi JS, Xu ZH. 2014. Anti-inflammatory activity of mycelial extracts from medicinal mushrooms. *International Journal of Medicinal Mushrooms* **16**:319–325.
- Germolec DR, Shipkowski KA, Frawley RP, Evans E. 2018. Markers of inflammation. Pages 57–79 in J. DeWitt, C. Rockwell, and C. Bowman, editors. *Methods in Molecular Biology*. Humana Press, New York.
- Ghosh S, Chakraborty N, Banerjee A, Chatterjee T, Acharya K. 2021. Mycochemical profiling and antioxidant activity of two different tea preparations from lion's mane medicinal mushroom, *Hericium erinaceus* (Agaricomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms* **23**:59–70.
- Binns J. 1985. *Hericium* in North America: cultural characteristics and mating behavior. *Canadian Journal of Botany* **63**:1551–1563.
- Goldsmith JR. 2015. Vitamin D as an immunomodulator: Risks with deficiencies and benefits of supplementation. *Healthcare* **3**:219–232.
- Gosslau A, Li S, Ho CT, Chen KY, Rawson NE. 2011. The importance of natural product characterization in studies of their anti-inflammatory activity. *Molecular Nutrition and Food Research* **55**:74–82.
- Guggenheim AG, Wright KM, Zwickey HL. 2014. Immune modulation from five major mushrooms: Application to integrative oncology. *Integrative Medicine* **13**:32–44.
- Gulcin İ. 2020. Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology* **94**:651–715.
- Hallenberg N, Nilsson RH, Robledo G. 2013. Species complexes in *Hericium* (Russulales, Agaricomycota) and a new species - *Hericium rajchenbergii* - from southern South America. *Mycological Progress* **12**:413–420.
- Halliwell B. 1994. Free Radicals and Antioxidants: A Personal View. *Nutrition Reviews* **52**:253–265.
- Halliwell B. 2012. Free radicals and antioxidants: Updating a personal view. *Nutrition Reviews* **70**:257–265.
- Halliwell B, Cheah IK, Tang RMY. 2018. Ergothioneine – a diet-derived antioxidant with therapeutic potential. *FEBS Letters* **592**:3357–3366.
- Han ZH, Ye JM, Wang GF. 2013. Evaluation of *in vivo* antioxidant activity of *Hericium erinaceus* polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules* **52**:66–71.
- He X, Wang X, Fang J, Chang Y, Ning N, Guo H, Huang L, Huang X, Zhao Z. 2017. Structures, biological activities, and industrial applications of the polysaccharides from *Hericium erinaceus* (Lion's Mane) mushroom: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* **97**:228–237.
- Heleno SA, Barros L, Martins A, Queiroz MJRP, Morales P, Fernández-Ruiz V, Ferreira ICFR. 2015. Chemical composition, antioxidant activity and bioaccessibility studies in phenolic extracts of two *Hericium* wild edible species. *LWT - Food Science and Technology* **63**:475–481.

- Holec J, Beran M. 2006. Červený seznam hub (makromycetů) České republiky. *Příroda* **24**:1–282.
- Holec J, Beran M, Bielich A. 2012. Přehled hub střední Evropy. Academia, Praha.
- Hořejší V. 2017. Zánět. *Vesmír* **96**:258–259.
- Hou Y, Ding X, Hou W. 2015. Composition and antioxidant activity of water-soluble oligosaccharides from *Hericiium erinaceus*. *Molecular Medicine Reports* **11**:3794–3799.
- Huang D, Boxin OU, Prior RL. 2005. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**:1841–1856.
- ILSI. 2002. Concepts of functional foods. The International Life Sciences Institute, Brusel.
- Inanaga K. 2012. Amycenone, a nootropic found in *Hericiium erinaceum*. *Personalized Medicine Universe* **1**:13–17.
- Jaismy JP, Manju SL, Ethiraj KR, Elias G. 2018. Safer anti-inflammatory therapy through dual COX-2/5-LOX inhibitors: A structure-based approach. *European Journal of Pharmaceutical Sciences* **121**:356–381.
- Jeitler M, Michalsen A, Frings D, Hübner M, Fischer M, Koppold-Liebscher DA, Murthy V, Kessler CS. 2020. Significance of Medicinal Mushrooms in Integrative Oncology: A Narrative Review. *Frontiers in Pharmacology* **11**:580656.
- Jiang S, Liu S, Qin M. 2019. Effects of extraction conditions on crude polysaccharides and antioxidant activities of the lion's mane medicinal mushroom, *Hericiium erinaceus* (Agaricomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms* **21**:1007–1018.
- Jiang S, Wang Y, Zhang X. 2016. Comparative studies on extracts from *Hericiium erinaceus* by different polarity reagents to gain higher antioxidant activities. *Experimental and Therapeutic Medicine* **12**:513–517.
- Jílek P. 2019. *Imunologie*. Grada Publishing, a.s., Praha.
- Jumbam B, Haelewaters D, Koch RA, Dentinger BTM, Henkel TW, Aime MC. 2019. A new and unusual species of *Hericiium* (Basidiomycota: Russulales, Hericiaceae) from the Dja Biosphere Reserve, Cameroon. *Mycological Progress* **18**:1253–1262.
- Kalaras MD, Richie JP, Calcagnotto A, Beelman RB. 2017. Mushrooms: A rich source of the antioxidants ergothioneine and glutathione. *Food Chemistry* **233**:429–433.
- Kawagishi H, Ando M, Mizuno T. 1990. Hericenone A and B as cytotoxic principles from the mushroom *Hericiium erinaceum*. *Tetrahedron Letters* **31**:373–376.
- Kawagishi H, Ando M, Sakamoto H, Yoshida S, Ojima F, Ishiguro Y, Ukai N, Furukawa S. 1991. Hericenones C, D and E, stimulators of nerve growth factor (NGF)-synthesis, from the mushroom *Hericiium erinaceum*. *Tetrahedron Letters* **32**:4561–4564.
- Kawagishi H, Ando M, Shinba K, Sakamoto H, Yoshida S, Ojima F, Ishiguro Y, Ukai N, Furukawa S. 1992a. Chromans, hericenones F, G and H from the mushroom *Hericiium erinaceum*. *Phytochemistry* **32**:175–178.
- Kawagishi H, Masui A, Tokuyama S, Nakamura T. 2006. Erinacines J and K from the mycelia of *Hericiium erinaceum*. *Tetrahedron* **62**:8463–8466.

- Kawagishi H, Shimada A, Hosokawa S, Mori H, Sakamoto H, Ishiguro Y, Sakemi S, Bordner J, Kojima N, Furukawa S. 1996a. Erinacines E, F, and G, stimulators of nerve growth factor (NGF)-synthesis, from the mycelia of *Hericium erinaceum*. *Tetrahedron Letters* **37**:7399–7402.
- Kawagishi H, Shimada A, Shirai R, Okamoto K, Ojima F, Sakamoto H, Ishiguro Y, Furukawa S. 1994. Erinacines A, B and C, strong stimulators of nerve growth factor (NGF)-synthesis, from the mycelia of *Hericium erinaceum*. *Tetrahedron Letters* **35**:1569–1572.
- Kawagishi H, Shirai R, Sakamoto H, Yoshida S, Ojima F, Ishiguro Y. 1992b. Erinapyrones A and B from the Cultured Mycelia of *Hericium erinaceum*. *Chemistry Letters* **21**:2475–2476.
- Kawagishi H, Simada A, Shizuki K, Mori H, Okamoto K, Sakamoto H, Furukawa S. 1996b. Erinacine D, a stimulator of NGF-synthesis, from the mycelia of *Hericium erinaceum*. *Heterocyclic Communications* **2**:51–54.
- Kawagishi H, Zhuang C. 2008. Compounds for dementia from *Hericium erinaceum*. *Drugs of the Future* **33**:149–155.
- Kedare SB, Singh RP. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology* **48**:412–422.
- Kenmoku H, Sassa T, Kato N. 2000. Isolation of erinacine P, a new parental metabolite of cyathane-xylosides, from *Hericium erinaceum* and its biomimetic conversion into erinacines A and B. *Tetrahedron Letters* **41**:4389–4393.
- Kenmoku H, Shimai T, Toyomasu T, Kato N, Sassa T. 2002. Erinacine Q, a new Erinacine from *Hericium erinaceum*, and its biosynthetic route to Erinacine C in the Basidiomycete. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **66**:571–575.
- Kim KH, Noh HJ, Choi SU, Lee KR. 2012a. Isohericenone, a new cytotoxic isoindolinone alkaloid from *Hericium erinaceum*. *The Journal of Antibiotics* **65**:575–577.
- Kim YO, Lee SW, Oh CH, Rhee YH. 2012b. *Hericium erinaceus* suppresses LPS-induced proinflammation gene activation in RAW264.7 macrophages. *Immunopharmacology and Immunotoxicology* **34**:504–512.
- Kimura Y, Nishibe M, Nakajima H, Hamasaki T, Shimada A, Tsuneda A, Shigematsu N. 1991. Hericerin, a new pollen growth inhibitor from the mushroom *Hericium erinaceum*. *Agricultural and Biological Chemistry* **55**:2673–2674.
- Kozarski M, Klaus A, Jakovljevic D, Todorovic N, Vunduk J, Petrović P, Niksic M, Vrvic MM, Van Griensven L. 2015. Antioxidants of edible mushrooms. *Molecules* **20**:19489–19525.
- Kozarski M, Klaus A, Niksic M, Jakovljevic D, Helsper JPF, Van Griensven LJLD. 2011. Antioxidative and immunomodulating activities of polysaccharide extracts of the medicinal mushrooms *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Ganoderma lucidum* and *Phellinus linteus*. *Food Chemistry* **129**:1667–1675.
- Kubátová L. 2020. Antioxidační aktivita vybraných druhů jedlých hub a nastínění jejich možné aplikace ve vývoji funkčních potravin. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Kunnumakkara AB, Sailo BL, Banik K, Harsha C, Prasad S, Gupta SC, Bharti AC, Aggarwal BB. 2018. Chronic diseases, inflammation, and spices: How are they linked? *Journal of Translational Medicine* **16**:1–25.

- Kuo HC, Kuo YR, Lee KF, Hsieh MC, Huang CY, Hsieh YY, Lee KC, Kuo HL, Lee LY, Chen WP. 2017. A Comparative Proteomic Analysis of Erinacine A's Inhibition of Gastric Cancer Cell Viability and Invasiveness. *Cellular Physiology and Biochemistry* **43**:195–208.
- Kurutas EB. 2016. The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition Journal* **15**:1–22.
- Kushairi N, Phan CW, Sabaratnam V, David P, Naidu M. 2019. Lion's mane mushroom, *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) pers. suppresses H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage and lps-induced inflammation in HT22 hippocampal neurons and BV2 microglia. *Antioxidants* **8**:261.
- Laveti D, Kumar M, Hemalatha R, Sistla R, Naidu VGM, Talla V, Verma V, Kaur N, Nagpal R. 2013. Anti-inflammatory treatments for chronic diseases: A review. *Inflammation and Allergy - Drug Targets* **12**:349–361.
- Lee DG, Kang HW, Park CG, Ahn YS, Shin Y. 2016. Isolation and identification of phytochemicals and biological activities of *Hericium ernaceus* and their contents in *Hericium* strains using HPLC/UV analysis. *Journal of Ethnopharmacology* **184**:219–225.
- Lee EW, Shizuki K, Hosokawa S, Suzuki M, Suganuma H, Inakuma T, Li J, Ohnishi-Kameyama M, Nagata T, Kawagishi H. 2000. Two novel diterpenoids, erinacines H and I from the Mycelia of *Hericium erinaceum*. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* **64**:2402–2405.
- Lee IT, Yang CM. 2012. Role of NADPH oxidase/ROS in pro-inflammatory mediators-induced airway and pulmonary diseases. *Biochemical Pharmacology* **84**:581–590.
- Lee KC, Lee KF, Tung SY, Huang WS, Lee LY, Chen WP, Chen CC, Teng CC, Shen CH, Kuo HC. 2019. Induction Apoptosis of Erinacine A in Human Colorectal Cancer Cells Involving the Expression of TNFR, Fas, and Fas Ligand via the JNK/p300/p50 Signaling Pathway with Histone Acetylation. *Frontiers in Pharmacology* **10**:1174.
- Lee SK, Ryu SH, Turk A, Yeon SW, Jo YH, Han YK, Hwang BY, Lee KY, Lee MK. 2020. Characterization of  $\alpha$ -glucosidase inhibitory constituents of the fruiting body of lion's mane mushroom (*Hericium erinaceus*). *Journal of Ethnopharmacology* **262**:113197.
- Lee WY, Park E-J, Ahn JK, Ka K-H. 2009. Ergothioneine Contents in Fruiting Bodies and Their Enhancement in Mycelial Cultures by the Addition of Methionine. *Mycobiology* **37**:43.
- Leonowicz A, Matuszewska A, Luterek J, Ziegenhagen D, Wojtaś-Wasilewska M, Cho NS, Hofrichter M, Rogalski J. 1999. Biodegradation of lignin by white rot fungi. *Fungal Genetics and Biology* **27**:175–185.
- Li H, Park S, Moon BK, Yoo YB, Lee YW, Lee C. 2012a. Targeted phenolic analysis in *Hericium erinaceum* and its antioxidant activities. *Food Science and Biotechnology* **21**:881–888.
- Li IC, Chang HH, Lin CH, Chen WP, Lu TH, Lee LY, Chen YW, Chen YP, Chen CC, Lin DPC. 2020. Prevention of Early Alzheimer's Disease by Erinacine A-Enriched *Hericium erinaceus* Mycelia Pilot Double-Blind Placebo-Controlled Study. *Frontiers in Aging Neuroscience* **12**:155.
- Li W, Lee SH, Jang HD, Ma JY, Kim YH. 2017. Antioxidant and anti-osteoporotic activities of aromatic compounds and sterols from *Hericium erinaceum*. *Molecules* **22**:1–10.

- Li W, Sun YN, Zhou W, Shim SH, Kim YH. 2014a. Erinacene D, a new aromatic compound from *Hericium erinaceum*. *Journal of Antibiotics* **67**:727–729.
- Li W, Zhou W, Cha JY, Kwon SU, Baek KH, Shim SH, Lee YM, Kim YH. 2015a. Sterols from *Hericium erinaceum* and their inhibition of TNF- $\alpha$  and NO production in lipopolysaccharide-induced RAW 264.7 cells. *Phytochemistry* **115**:231–238.
- Li W, Zhou W, Kim EJ, Shim SH, Kang HK, Kim YH. 2015b. Isolation and identification of aromatic compounds in Lion's Mane Mushroom and their anticancer activities. *Food Chemistry* **170**:336–342.
- Li W, Zhou W, Lee DS, Shim SH, Kim YC, Kim YH. 2014b. Hericirine, a novel anti-inflammatory alkaloid from *Hericium erinaceum*. *Tetrahedron Letters* **55**:4086–4090.
- Li W, Zhou W, Song SB, Shim SH, Kim YH. 2014c. Sterol fatty acid esters from the mushroom *Hericium erinaceum* and their PPAR transactivational effects. *Journal of Natural Products* **77**:2611–2618.
- Li X, Wang Z, Wang L, Walid E, Zhang H. 2012b. *In vitro* antioxidant and anti-proliferation activities of polysaccharides from various extracts of different mushrooms. *International Journal of Molecular Sciences* **13**:5801–5817.
- Li Y, Zhang G, Ng TB, Wang H. 2010. A novel lectin with antiproliferative and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from dried fruiting bodies of the monkey head mushroom *Hericium erinaceum*. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* **2010**:1–9.
- Libby P, Kobold S. 2019. Inflammation: a common contributor to cancer, aging, and cardiovascular diseases—expanding the concept of cardio-oncology. *Cardiovascular Research* **115**:824–829.
- Lin CF, Shiao YJ, Chen CC, Tzeng TT, Chen CC, Lee LY, Chen WP, Shen CC. 2018. A xanthurenate and an isoindolinone from the mycelia of *Hericium erinaceum*. *Phytochemistry Letters* **26**:218–221.
- Lin CH, Wei YT, Chou CC. 2006. Enhanced antioxidative activity of soybean koji prepared with various filamentous fungi. *Food Microbiology* **23**:628–633.
- Litescu SC, Eremia SAV, Tache A, Vasilescu I, Radu GL. 2014. The Use of Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC) Assays in the Assessment of Beverages' Antioxidant Properties. Pages 245–251 in V. Preedy, editor. *Processing and Impact on Antioxidants in Beverages*. Academic Press.
- Lu CC, Huang WS, Lee KF, Lee KC, Hsieh MC, Huang CY, Lee LY, Lee BO, Teng CC, Shen CH. 2016. Inhibitory effect of Erinacines A on the growth of DLD-1 colorectal cancer cells is induced by generation of reactive oxygen species and activation of p70S6K and p21. *Journal of Functional Foods* **21**:474–484.
- Ma BJ, Ma JC, Ruan Y. 2012. Hericenone L, a new aromatic compound from the fruiting bodies of *Hericium erinaceums*. *Chinese Journal of Natural Medicines* **10**:363–365.
- Ma BJ, Shen JW, Yu HY, Ruan Y, Wu TT, Zhao X. 2010. Hericenones and erinacines: Stimulators of nerve growth factor (NGF) biosynthesis in *Hericium erinaceus*. *Mycology* **1**:92–98.
- Ma BJ, Zhou Y, Li LZ, Li HM, Gao ZM, Ruan Y. 2008. A new cyathane-xyloside from the mycelia of *Hericium erinaceum*. *Zeitschrift für Naturforschung* **63**:1241–1242.
- Maione F, Russo R, Khan H, Mascolo N. 2016. Medicinal plants with anti-inflammatory activities. *Natural Product Research* **30**:1343–1352.

- Malinowska E, Krzyczkowski W, Herold F, Łapienis G, Ślusarczyk J, Suchocki P, Kuraś M, Turło J. 2009. Biosynthesis of selenium-containing polysaccharides with antioxidant activity in liquid culture of *Hericium erinaceum*. *Enzyme and Microbial Technology* **44**:334–343.
- Mau JL, Lin HC, Ma JT, Song SF. 2001. Non-volatile taste components of several speciality mushrooms. *Food Chemistry* **73**:461–466.
- Mau JL, Lin HC, Song SF. 2002. Antioxidant properties of several specialty mushrooms. *Food Research International* **35**:519–526.
- Mau JL, Tsai SY, Tseng YH, Huang SJ. 2005. Antioxidant properties of hot water extracts from *Ganoderma tsugae* Murrill. *LWT - Food Science and Technology* **38**:589–597.
- Mittal M, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malik AB. 2014. Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury. *Antioxidants & Redox Signaling* **20**:1126–1167.
- Miyazawa M, Matsuda N, Tamura N, Ishikawa R. 2008. Characteristic flavor of volatile oil from dried fruiting bodies of *Hericium erinaceus* (Bull.: Fr.) Pers. *Journal of Essential Oil Research* **20**:420–423.
- Miyazawa M, Takahashi T, Horibe I, Ishikawa R. 2012. Two new aromatic compounds and a new D-arabinitol ester from the mushroom *Hericium erinaceum*. *Tetrahedron* **68**:2007–2010.
- Mori H, Aizawa K, Inakuma T, Ichii A, Yamauchi R, Kato K. 1998. Structural Analysis of the  $\beta$ -D-Glucan from the Fruit-body of *Hericium erinaceum*. *Journal of Applied Glycoscience* **45**:361–365.
- Mori K, Inatomi S, Ouchi K, Azumi Y, Tuchida T. 2009. Improving effects of the mushroom Yamabushitake (*Hericium erinaceus*) on mild cognitive impairment: A double-blind placebo-controlled clinical trial. *Phytotherapy Research* **23**:367–372.
- Mori K, Ouchi K, Hirasawa N. 2015. The anti-inflammatory effects of lion's mane culinary-medicinal mushroom, *Hericium erinaceus* (Higher basidiomycetes) in a coculture system of 3T3-L1 adipocytes and RAW264 macrophages. *International Journal of Medicinal Mushrooms* **17**:609–618.
- Mwangi RW, Macharia JM, Wagara IN, Bence RL. 2022. The antioxidant potential of different edible and medicinal mushrooms. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **147**:112621.
- Mycobank. 2021. *Hericium*. Available from [https://www.mycobank.org/page/Name\\_details\\_page/56692](https://www.mycobank.org/page/Name_details_page/56692) (accessed March 13, 2022).
- Nagano M, Shimizu K, Kondo R, Hayashi C, Sato D, Kitagawa K, Ohnuki K. 2010. Reduction of depression and anxiety by 4 weeks *Hericium erinaceus* intake. *Biomedical Research* **31**:231–237.
- Nasef NA, Mehta S, Ferguson LR. 2017. Susceptibility to chronic inflammation: an update. *Archives of Toxicology* **91**:1131–1141.
- Netea MG, Balkwill F, Chonchol M, Cominelli F, Donath MY, Giamarellos-Bourboulis EJ, Golenbock D, Gresnigt MS, Heneka MT, Hoffman HM. 2017. A guiding map for inflammation. *Nature Immunology* **18**:826–831.
- Ngan LTM, Ngan LTM, Vi NT, Tham DTM, Loan LTT, Ho PT, Hieu TT. 2021. Antioxidant and anti-*Helicobacter pylori* activities of *Hericium erinaceus* mycelium and culture filtrate. *Biomedical Research and Therapy* **8**:4267–4276.



- Obara Y, Nakahata N. 2002. The signaling pathway of neurotrophic factor biosynthesis. *Drug News and Perspectives* **15**:290–298.
- Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. 2001. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**:4619–4626.
- Pegler DN. 2003. Useful fungi of the world: the monkey head fungus. *Mycologist* **17**:120–121.
- Petrović J, Glamočlija J, Stojković D, Ćirić A, Barros L, Ferreira ICFR, Soković M. 2015. Nutritional value, chemical composition, antioxidant activity and enrichment of cream cheese with chestnut mushroom *Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing. *Journal of Food Science and Technology* **52**:6711–6718.
- Petrović J, Stojković D, Reis FS, Barros L, Glamočlija J, Ćirić A, Ferreira ICFR, Soković M. 2014. Study on chemical, bioactive and food preserving properties of *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr. *Food and Function* **5**:1441–1451.
- Piętka J, Gendek A, Malaťák J, Velebil J, Moskalik T. 2019. Effects of selected white-rot fungi on the calorific value of beech wood (*Fagus sylvatica* L.). *Biomass and Bioenergy* **127**:105290.
- Prasad S, Sung B, Aggarwal BB. 2012. Age-associated chronic diseases require age-old medicine: Role of chronic inflammation. *Preventive Medicine* **54**:S29–S37.
- Qin M, Geng Y, Lu ZM, Xu HY, Shi JS, Xu X, Xu ZH. 2016. Anti-Inflammatory Effects of Ethanol Extract of Lion's Mane Medicinal Mushroom, *Hericium erinaceus* (Agaricomycetes), in Mice with Ulcerative Colitis. *International Journal of Medicinal Mushrooms* **18**:227–234.
- Rahman MA, Abdullah N, Aminudin N. 2014. Inhibitory effect on *in vitro* LDL oxidation and HMG Co-a reductase activity of the liquid-liquid partitioned fractions of *Hericium erinaceus* (Bull.) persoon (Lion's Mane Mushroom). *BioMed Research International* **2014**:1–9.
- Rajaratnam S, Shashirekha MN. 2003. Mushrooms and Truffles | Use of Wild Mushrooms. Pages 4048–4054 in B. Caballero, editor. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Academic Press.
- Reis FS, Stojković D, Soković M, Glamočlija J, Ćirić A, Barros L, Ferreira ICFR. 2012. Chemical characterization of *Agaricus bohusii*, antioxidant potential and antifungal preserving properties when incorporated in cream cheese. *Food Research International* **48**:620–626.
- Ren G, Miao Y, Zhen D, Mahfuz S, Zhao F, Song H. 2018a. Partial purification and antioxidant activities of oligosaccharides from *Hericium caput-medusae* (Agaricomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms* **20**:947–960.
- Ren L, Hemar Y, Perera CO, Lewis G, Krissansen GW, Buchanan PK. 2014. Antibacterial and antioxidant activities of aqueous extracts of eight edible mushrooms. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* **3**:41–51.
- Ren Y, Geng Y, Du Y, Li W, Lu ZM, Xu HY, Xu GH, Shi JS, Xu ZH. 2018b. Polysaccharide of *Hericium erinaceus* attenuates colitis in C57BL/6 mice via regulation of oxidative stress, inflammation-related signaling pathways and modulating the composition of the gut microbiota. *The Journal of Nutritional Biochemistry* **57**:67–76.

- Ribeiro A, Ruphuy G, Lopes JC, Dias MM, Barros L, Barreiro F, Ferreira ICFR. 2015. Spray-drying microencapsulation of synergistic antioxidant mushroom extracts and their use as functional food ingredients. *Food Chemistry* **188**:612–618.
- Roda E, Priori EC, Ratto D, De Luca F, Di Iorio C, Angelone P, Locatelli CA, Desiderio A, Bottone MG, Rossi P. 2021. Neuroprotective metabolites of *Hericium erinaceus* promote neuro-healthy aging. *International Journal of Molecular Sciences* **22**:6379.
- Roda E, Ratto D, De Luca F De, Desiderio A, Ramieri M, Goppa L, Savino E, Bottone MG, Locatelli CA, Rossi P. 2022. Searching for a Longevity Food, We Bump into *Hericium erinaceus* Primordium Rich in Ergothioneine: The “Longevity Vitamin” Improves Locomotor Performances during Aging. *Nutrients* **14**:1177.
- Rodrigues DMF, Freitas AC, Rocha-Santos TAP, Vasconcelos MW, Roriz M, Rodríguez-Alcalá LM, Gomes AMP, Duarte AC. 2015. Chemical composition and nutritive value of *Pleurotus citrinopileatus* var *cornucopiae*, *P. eryngii*, *P. salmoneo stramineus*, *Pholiota nameko* and *Hericium erinaceus*. *Journal of Food Science and Technology* **52**:6927–6939.
- Rupcic Z, Rascher M, Kanaki S, Köster RW, Stadler M, Wittstein K. 2018. Two new cythane diterpenoids from mycelial cultures of the medicinal mushroom *Hericium erinaceus* and the rare species, *Hericium flagellum*. *International Journal of Molecular Sciences* **19**:740.
- Ryu SH, Hong SM, Khan Z, Lee SK, Vishwanath M, Turk A, Yeon SW, Jo YH, Lee DH, Lee JK. 2021. Neurotrophic isoindolinones from the fruiting bodies of *Hericium erinaceus*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **31**:127714.
- Sarveswaran R, Jayasuriya WJABN, Suresh TS. 2017. *In vitro* assays to investigate the anti-inflammatory activity of herbal extracts: A Review. *World Journal of Pharmaceutical Research* **6**:131–141.
- Schaich KM, Tian X, Xie J. 2015. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of Functional Foods* **14**:111–125.
- Seifried RM, Harrison E, Seifried HE. 2017. Antioxidants in health and disease. Pages 321–346 in A. Coulston, C. Boushey, M. Ferruzzi, and L. Delahanty, editors. *Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease*. Academic Press.
- Shang HM, Song H, Jiang YY, Ding GD, Xing YL, Niu SL, Wu B, Wang LN. 2014. Influence of fermentation concentrate of *Hericium caput-medusae* (Bull.:Fr.) Pers. on performance, antioxidant status, and meat quality in broilers. *Animal Feed Science and Technology* **198**:166–175.
- Sharma OP, Bhat TK. 2009. DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry* **113**:1202–1205.
- Sharpe E, Farragher-Gnadt AP, Igbanugo M, Huber T, Michelotti JC, Milenkowic A, Ludlam S, Walker M, Hanes D, Bou-Abdallah F. 2021. Comparison of antioxidant activity and extraction techniques for commercially and laboratory prepared extracts from six mushroom species. *Journal of Agriculture and Food Research* **4**:100130.
- Sheng X, Yan J, Meng Y, Kang Y, Han Z, Tai G, Zhou Y, Cheng H. 2017. Immunomodulatory effects of *Hericium erinaceus* derived polysaccharides are mediated by intestinal immunology. *Food and Function* **8**:1020–1027.
- Shimbo M, Kawagishi H, Yokogoshi H. 2005. Erinacine A increases catecholamine and nerve growth factor content in the central nervous system of rats. *Nutrition Research* **25**:617–623.

- Shyam S, Ramadas A, Chang SK. 2018. Isomaltulose: Recent evidence for health benefits. *Journal of Functional Foods* **48**:173–178.
- Silva EM, Souza JNS, Rogez H, Rees JF, Larondelle Y. 2007. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region. *Food Chemistry* **101**:1012–1018.
- Singla R, Ghosh M, Ganguli A. 2009. Phenolics and antioxidant activity of a ready-to-eat snack food prepared from the edible mushroom (*Agaricus bisporus*). *Nutrition and Food Science* **39**:227–234.
- Spelman K, Sutherland E, Bagade A. 2017. Neurological Activity of Lion's Mane (*Hericium erinaceus*). *Journal of Restorative Medicine* **6**:19–26.
- Stojković D, Reis FS, Glamočlija J, Ćirić A, Barros L, Van Griensven LJLD, Ferreira ICFR, Soković M. 2014. Cultivated strains of *Agaricus bisporus* and *A. brasiliensis*: Chemical characterization and evaluation of antioxidant and antimicrobial properties for the final healthy product-natural preservatives in yoghurt. *Food and Function* **5**:1602–1612.
- Stojković DS, Reis FS, Ćirić A, Barros L, Glamočlija J, Ferreira ICFR, Soković M. 2015. *Boletus aereus* growing wild in Serbia: chemical profile, *in vitro* biological activities, inactivation and growth control of food-poisoning bacteria in meat. *Journal of Food Science and Technology* **52**:7385–7392.
- Suruga K, Tomita T, Kadokura K. 2020. Soybean fermentation with basidiomycetes (medicinal mushroom mycelia). *Chemical and Biological Technologies in Agriculture* **7**:23.
- Swinbanks D, O'Brien J. 1993. Japan explores the boundary between food and medicine. *Nature* **364**:180.
- Tatti PN, Anitha S, Shashidhara S, Deepak M, Bidari S. 2012. Evaluation of *in-vitro* Anti-Denaturation Activity of Isolated Compound of *Butea Monosperma* Bark. *Pharma Science Monitor* **3**:2314–2320.
- Tauchen J. 2019. Antioxidanty v léčbě lidských nemocí : Pravda, či klam? *Vesmír* **98**:306–307.
- Taverne YJ, Merkus D, Bogers AJ, Halliwell B, Duncker DJ, Lyons TW. 2018. Reactive Oxygen Species: Radical Factors in the Evolution of Animal Life: A molecular timescale from Earth's earliest history to the rise of complex life. *BioEssays* **40**:1700158.
- Taverne YJHJ, Bogers AJJC, Duncker DJ, Merkus D. 2013. Reactive oxygen species and the cardiovascular system. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* **2013**:862423.
- Thongbai B, Rapior S, Hyde KD, Wittstein K, Stadler M. 2015. *Hericium erinaceus*, an amazing medicinal mushroom. *Mycological Progress* **14**:1–23.
- Tsai SY, Tsai HL, Mau JL. 2007. Antioxidant properties of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea*, and *Boletus edulis*. *LWT - Food Science and Technology* **40**:1392–1402.
- Tu JQ, Liu HP, Wen YH, Chen P, Liu ZT. 2021. A novel polysaccharide from *Hericium erinaceus*: Preparation, structural characteristics, thermal stabilities, and antioxidant activities *in vitro*. *Journal of Food Biochemistry* **45**:e13871.
- Tung SY, Lee KC, Lee KF, Yang YL, Huang WS, Lee LY, Chen CC, Teng CC, Shen CH, Kuo HC. 2021. Apoptotic mechanisms of gastric cancer cells induced by isolated erinacine S through epigenetic histone H3 methylation of FasL and TRAIL. *Food and Function* **12**:3455–3468.

- Tzeng TT, Chen CC, Chen CC, Tsay HJ, Lee LY, Chen WP, Shen CC, Shiao YJ. 2018. The cyanthine diterpenoid and sesterterpene constituents of *Hericium erinaceus* mycelium ameliorate Alzheimer's disease-related pathologies in APP/PS1 transgenic mice. *International Journal of Molecular Sciences* **19**:598.
- Ueda K, Tsujimori M, Kodani S, Chiba A, Kubo M, Masuno K, Sekiya A, Nagai K, Kawagishi H. 2008. An endoplasmic reticulum (ER) stress-suppressive compound and its analogues from the mushroom *Hericium erinaceum*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry* **16**:9467–9470.
- Ulziijargal E, Yang JH, Lin LY, Chen CP, Mau JL. 2013. Quality of bread supplemented with mushroom mycelia. *Food Chemistry* **138**:70–76.
- Üstün NŞ, Bulam S, Pekşen A. 2018. The use of mushrooms and their extracts and compounds in functional foods and nutraceuticals. *Türkmen* **1**:1205–1222.
- Venturella G, Ferraro V, Cirlincione F, Gargano ML. 2021. Medicinal mushrooms: Bioactive compounds, use, and clinical trials. *International Journal of Molecular Sciences* **22**:1–31.
- Vigna L, Morelli F, Agnelli GM, Napolitano F, Ratto D, Occhinegro A, Iorio C, Savino E, Girometta C, Rossi P. 2019. *Hericium erinaceus* Improves Mood and Sleep Disorders in Patients Affected by Overweight or Obesity: Could Circulating Pro-BDNF and BDNF Be Potential Biomarkers? *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* **2019**:1–12.
- Vishwakarma RK, Negi DS. 2020. The Development Of COX-1 And COX-2 Inhibitors: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* **8**:3544–3555.
- Vital ACP, Croge C, Gomes-da-Costa SM, Matumoto-Pintro PT. 2017. Effect of addition of *Agaricus blazei* mushroom residue to milk enriched with Omega-3 on the prevention of lipid oxidation and bioavailability of bioactive compounds after *in vitro* gastrointestinal digestion. *International Journal of Food Science and Technology* **52**:1483–1490.
- Vital ACP, Goto PA, Hanai LN, Gomes-da-Costa SM, de Abreu Filho BA, Nakamura CV, Matumoto-Pintro PT. 2015. Microbiological, functional and rheological properties of low fat yogurt supplemented with *Pleurotus ostreatus* aqueous extract. *LWT - Food Science and Technology* **64**:1028–1035.
- Wang K, Bao L, Ma K, Liu N, Huang Y, Ren J, Wang W, Liu H. 2015a. Eight new alkaloids with PTP1B and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities from the medicinal mushroom *Hericium erinaceus*. *Tetrahedron* **71**:9557–9563.
- Wang K, Bao L, Qi Q, Zhao F, Ma K, Pei Y, Liu H. 2015b. Erinacerins C-L, isoindolin-1-ones with  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activity from cultures of the medicinal mushroom *Hericium erinaceus*. *Journal of Natural Products* **78**:146–154.
- Wang LY, Huang CS, Chen YH, Chen CC, Chen CC, Chuang CH. 2019a. Anti-inflammatory effect of erinacine C on NO production through down-regulation of NF- $\kappa$ B and activation of Nrf2-mediated HO-1 in BV2 microglial cells treated with LPS. *Molecules* **24**:3317.
- Wang M, Zhang Y, Xiao X, Xu D, Gao Y, Gao Q. 2017. A polysaccharide isolated from mycelia of the lion's mane medicinal mushroom *Hericium erinaceus* (Agaricomycetes) induced apoptosis in precancerous human gastric cells. *International Journal of Medicinal Mushrooms* **19**:1053–1060.
- Wang RX, Zhou M, Ma HL, Qiao YB, Li QS. 2021. The Role of Chronic Inflammation in Various Diseases and Anti-inflammatory Therapies Containing Natural Products. *ChemMedChem* **16**:1576–1592.

- Wang XL, Xu KP, Long HP, Zou H, Cao XZ, Zhang K, Hu JZ, He SJ, Xu PS, Tan GS. 2016. New isoindolinones from the fruiting bodies of *Hericiium erinaceum*. *Fitoterapia* **111**:58–65.
- Wang XY, Yin JY, Zhao MM, Liu SY, Nie SP, Xie MY. 2018. Gastroprotective activity of polysaccharide from *Hericiium erinaceus* against ethanol-induced gastric mucosal lesion and pylorus ligation-induced gastric ulcer, and its antioxidant activities. *Carbohydrate Polymers* **186**:100–109.
- Wang XY, Zhang DD, Yin JY, Nie SP, Xie MY. 2019b. Recent developments in *Hericiium erinaceus* polysaccharides: extraction, purification, structural characteristics and biological activities. *Critical reviews in food science and nutrition* **59**:S96–S115.
- Wasser SP. 2014. Medicinal mushroom science: Current perspectives, advances, evidences, and challenges. *Biomedical Journal* **37**:345–356.
- Winder M, Bulska-Będkowska W, Chudek J. 2021. The use of *Hericiium erinaceus* and *Trametes versicolor* extracts in supportive treatment in oncology. *Acta Pharmaceutica* **71**:1–16.
- Winklerová D. 2009. Funkční potraviny a legislativa. *Výživa a potraviny* **64**:11–12.
- Wong KH, Sabaratnam V, Abdullah N, Kuppusamy UR, Naidu M. 2009. Effects of cultivation techniques and processing on antimicrobial and antioxidant activities of *Hericiium erinaceus* (Bull.:Fr.) Pers. extracts. *Food Technology and Biotechnology* **47**:47–55.
- Wu J, Tokunaga T, Kondo M, Ishigami K, Tokuyama S, Suzuki T, Choi JH, Hirai H, Kawagishi H. 2015. Erinaceolactones A to C, from the culture broth of *Hericiium erinaceus*. *Journal of Natural Products* **78**:155–158.
- Xue Y, Ding X, Wu X, Xu Z, Zhang Z, He J, Jiang H, Wu F, Chen Y. 2021. Optimization of preparation process and antioxidant activity of the chelate of a *Hericiium erinaceus* polysaccharide with zinc. *Journal of Food Measurement and Characterization* **15**:2039–2048.
- Yao F, Gao H, Yin CM, Shi DF, Lu Q, Fan XZ. 2021. Evaluation of *In Vitro* Antioxidant and Antihyperglycemic Activities of Extracts from the Lion's Mane Medicinal Mushroom, *Hericiium erinaceus*(Agaricomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms* **23**:55–66.
- Yao W, Zhang JC, Dong C, Zhuang C, Hirota S, Inanaga K, Hashimoto K. 2015. Effects of amycenone on serum levels of tumor necrosis factor- $\alpha$ , interleukin-10, and depression-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **136**:7–12.
- Yaoita Y, Danbara K, Kikuchi M. 2005. Two new aromatic compounds from *Hericiium erinaceum* (Bull.: Fr.) Pers. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* **53**:1202–1203.
- Yuan Y, Hunt RH. 2007. Global Gastrointestinal Safety Profile of Etoricoxib and Lumiracoxib. *Current Pharmaceutical Design* **13**:2237–2247.
- Zakonyprolidi.cz. 2014. Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 ze dne 20. 12. 2006 o výživových a zdravotních tvrzeních při označování potravin. Available from <https://www.zakonyprolidi.cz/pravo/eu/dokument?celex=32006R1924> (accessed August 18, 2021).

- Zakonyprolidi.cz. 2021. Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2002/46/ES ze dne 10. 6. 2002 o sblížení právních předpisů členských států týkajících se doplňků stravy. Available from <https://www.zakonyprolidi.cz/pravoou/dokument?celex=32002L0046> (accessed August 18, 2021).
- Zan X, Cui F, Li Y, Yang Y, Wu D, Sun W, Ping L. 2015. *Hericium erinaceus* polysaccharide-protein HEG-5 inhibits SGC-7901 cell growth via cell cycle arrest and apoptosis. *International Journal of Biological Macromolecules* **76**:242–253.
- Zhang CC, Yin X, Cao CY, Wei J, Zhang Q, Gao JM. 2015. Chemical constituents from *Hericium erinaceus* and their ability to stimulate NGF-mediated neurite outgrowth on PC12 cells. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters* **25**:5078–5082.
- Zhang F, Lv H, Zhang X. 2020. Erinacerins, Novel Glioma Inhibitors from *Hericium erinaceus*, Induce Apoptosis of U87 Cells through Bax/Capase-2 Pathway. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry* **20**:2082–2088.
- Zhang J, Zhang J, Zhao L, Shui X, Wang LA, Wu U. 2019. Antioxidant and anti-aging activities of ethyl acetate extract of the coral tooth mushroom, *Hericium coralloides* (Agaricomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms* **21**:561–570.
- Zhang Y, Liu L, Bao L, Yang Y, Ma K, Liu H. 2018. Three new cyathane diterpenes with neurotrophic activity from the liquid cultures of *Hericium erinaceus*. *Journal of Antibiotics* **71**:818–821.
- Zhang Z, Lv G, Pan H, Pandey A, He W, Fan L. 2012. Antioxidant and hepatoprotective potential of endo-polysaccharides from *Hericium erinaceus* grown on tofu whey. *International Journal of Biological Macromolecules* **51**:1140–1146.
- Zhao S, Gao Q, Rong C, Wang S, Zhao Z, Liu Y, Xu J. 2020. Immunomodulatory effects of edible and medicinal mushrooms and their bioactive immunoregulatory products. *Journal of Fungi* **6**:1–37.

## 9 Seznam použitých zkratek a symbolů

AAPH: 2,2-azobis-2-amidopropan-dihydrochlorid  
BDNF: Mozkový neurotrofní faktor  
COX: Cyklooxygenáza  
DMSO: Dimethylsulfoxid  
DPPH: 2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl  
EC<sub>50</sub>: Střední účinná koncentrace  
FOSHU: Potraviny pro specifické zdravotní účely  
FUFOSE: Functional food science in Europe  
HAT: Hydrogen atom transfer  
IC<sub>50</sub>: Střední inhibiční koncentrace  
IDE: Inzulináza  
IL: Interleukin  
iNOS: Syntáza oxidu dusnatého  
LDL: Lipoprotein o nízké hustotě  
NF-κB: Nukleární faktor kappa B  
NGF: Nervový růstový faktor  
NO: Oxid dusnatý  
ORAC: Oxygen radical absorbance capacity  
PGE<sub>2</sub>: Prostaglandin E<sub>2</sub>  
RNS: Reaktivní formy dusíku  
ROS: Reaktivní formy kyslíku  
RSS: Reaktivní formy síry  
SET: Single electron transfer  
TCM: Tradiční čínská medicína  
TNF: Faktor nádorové nekrózy